COUNTWAY LIBRARY
HC 6EB4

BOSTON
MEDICAL LIBRARY
8 THE FENWAY

NAUNYN-SCHMIEDEBERGS

ARCHIV

FÜR

EXPERIMENTELLE PATHOLOGIE

UND

PHARMAKOLOGIE

UNTER MITWIRKUNG VON FACHGENOSSEN

HERAUSGEGEBEN VON

DR. L. KREHL † UND DR. W. STRAUB

EMER. PROF. DER SPEZIELLEN PATHOLOGIE UND THERAPIE IN HEIDELBERG

PROF. DER PHARMAKOLOGIE IN MÜNCHEN

193. BAND

MIT 174 TEXTABBILDUNGEN

BERLIN

VERLAG VON F. C. W. VOGEL

1939

29903

CATALOGUED
JAN 26 1940
F. K. M.

Printed in Germany

BOSTON MEDICAL
JAN 23 1940
LIBRARY

Inhalt des 193. Bandes.

Seite

Albath, Wolfgang, Entzündungswidrige Stoffe im Kamillenöl. Mit 3 Textabbildungen 619

Altenburger, E. und **Diehl, F.,** Vitamin C und Grundumsatz..... 10

Angstenberger, Rudolf s. Helmut Hindemith.

Backert, Paul, Über die Veränderungen des Serum-Schwefels bei parenteraler Thiophen-Schwefelzufuhr (in Form von Ca-Leukichthol und Rheumichthol). Mit 3 Textabbildungen 79

Bauer, Hellmut, Thyroxin und Herzwirkung. Mit 3 Textabbildungen ... 642

Bauer, Hellmut, Betrachtungen zur Herzwirksamkeit der Digitalisglykoside. Mit 5 Textabbildungen 661

Beer, A. G., Beiträge zur Pharmakologie des extrapyramidalen Systems. I. Mitteilung: Die Wirkung des Harmins bei Katzen mit intaktem Nervensystem 377

Beer, A. G., Beiträge zur Pharmakologie des extrapyramidalen Systems. II. Mitteilung: DieWirkung des Harmins bei Katzen ohne Neocortex 393

Bergner, Gertrud, Mikroskopische Untersuchung der von A. Beer beschriebenen drei Katzen ohne Neocortex. Mit 17 Textabbildungen 408

Bergstermann s. Labes und Krauskopf.

Bloch, Hubert, Darstellung und Pharmakologie des Isobutyryl-3-Oxyphenyltrimethylammoniummethylsulfats und einiger verwandter Verbindungen. Mit 3 Textabbildungen 292

Brock, N., Druckrey, H. und **Herken, H.,** Über Kerngifte und Cytoplasmagifte. Mit 1 Textabbildung 679

Brock, Norbert, Druckrey, Hermann und **Herken, Hans,** Der Stoffwechsel des geschädigten Gewebes, IV. Mit 8 Textabbildungen 711

Bundschuh, H. E. s. G. Kuschinsky.

Credner, K. s. P. Holtz und A. Reinhold.

Diehl, F. s. E. Altenburger.

Drobnik, Robert s. Erhard Glaser.

Druckrey, H. s. N. Brock und H. Herken

Ehnimb, G. s. J. Zachowski.

Eichler, Oskar und **Noack, Christa,** Bemerkungen über die Methode der Adrenalinbestimmung von Whitehorn..... 503

Seite

Eichler, Oskar, Cholinphosphorsäureester. Mit 11 Textabbildungen 576

Flach, Martin s. Ernst Schulze.

Frey, Joachim und **Schlechter, Maria,** Experimentelle Untersuchungen über die Ausscheidungsgröße des Thalliums in verschiedenen Körperflüssigkeiten 530

Gebhardt, H. und **Metzger, Fr.,** Über die Reizbarkeit des Froschherzventrikels unter der Wirkung sympatikomimetrischer Stoffe..... 107

Gerstner, H., Der Einfluß des Chloroforms auf die Rhodanpermeabilität der Froschhaut. Mit 3 Textabbildungen 211

Glaser, Erhard und **Drobnik, Robert,** Beiträge zur Kenntnis der Wirkstoffe des Knoblauchs 1

Grab, W., Beziehungen zwischen chemischer Form und Wirksamkeit von Vitamin A in den Konzentraten aus Fischleberölen. Mit 2 Textabbildungen 170

Grünig, Herbert s. Hubert Vollmer.

Grumbrecht, Paul und **Loeser, Arnold,** Künstliche Brunststoffe. Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung von 4, 4'-Dioxy-α, β-Diäthylstilben, Oestron und Oestradiol. Mit 3 Textabbildungen 34

Hausberger, F. X. und **Neuenschwander-Lemmer, N.,** Beziehungen der Glycerophosphatase zur Kohlehydrat-Fettsynthese im Fettgewebe 110

Herken, H. s. N. Brock und H. Druckrey.

Heubner, W., Über Auswertung von oestronhaltigen Tablettenpräparaten 521

Hilmers, Gerd, Zur Störung des Milchsäurestoffwechsels im Glykogenzerfall 85

Hindemith, Helmut, Die Wirkung des Coffeins auf den Gasstoffwechsel der weißen Ratte. Mit 6 Textabbildungen 587

Hindemith, Helmut und **Angstenberger, Rudolf,** Die Wirkung des Coffeins auf den Gasstoffwechsel des Kaninchens. Mit 1 Textabbildung .. 599

Hindemith, Helmut und **Müller, Lothar,** Untersuchungen über die Saponin- und Saponin- Collargolanämie des Kaninchens 604

Holtz, P., Credner, K. und **Reinhold, A.,** Aminbildung durch Darm. Mit 4 Textabbildungen 688

Homann, G. s. R. v. Werz.

Irmer, Alfons s. Hubert Vollmer.

Issekutz jun., Béla von, Studien über Methämoglobinbildung. XV. Mitteilung. Mit 6 Textabbildungen 551

Seite

Issekutz jun., Béla von. Studien über Methämoglobinbildung. XVI. Mitteilung: „Normales" Methämoglobin bei Katzen 567

Issekutz jun., Béla von, Studien über Methämoglobinbildung. XVII. Mitteilung 569

Jarisch, A. und **Richter, H.,** Die Kreislaufwirkung des Veratrins. Mit 5 Textabbildungen 347

Jarisch, A. und **Richter, H.,** Die afferenten Bahnen des Veratrineffektes in den Herznerven. Mit 6 Textabbildungen 355

Kesztyüs, L. s. S. Went und K. Piribauer.

Koll, W. und **Külz, F.,** Auswertungen von Follikelhormon-Tabletten des Handels 505

Konzett, Heribert und **Weis, Wolfdietrich,** Der Einfluß von Ultraviolettbestrahlung auf Adrenalin und adrenalinähnliche Körper. I. Mitteilung: Adrenalin und Sympatol. Mit 7 Textabbildungen 440

Krauskopf s. Labes und Bergstermann.

Krautwald, A., Kuschinsky, G. und **Riedel, H.,** Über die sedative Wirkung von Pyridinderivaten. Mit 1 Textabbildung 219

Külz, F. s. W. Koll.

Kuschel, H., Über die Wirkung von Cardiazol bei enteraler und perlingualer Zufuhr 330

Kuschinsky, G. und **Bundschuh, H. E.,** Nachtrag zur Arbeit: Über eine diuretische und Kochsalz ausschwemmende Substanz in Hypophysenhinterlappen-Präparaten 256

Kuschinsky, G. s. A. Krautwald und H. Riedel.

Labes, Krauskopf und **Bergstermann,** Löslichkeitsprodukte zwischen substituierten Phenolen und Acridin sowie die Bedeutung der verschiedenen Substituenten beim Vergleich mit entsprechenden Phenol-Basenadditionsreaktionen anderer den Pyridinring tragender Basen. Mit 1 Textabbildung. 693

Lebduska, J., Pidra, J. und **Pokorny, F.,** Über die Wirkung des Chlorkalks auf die Haut. Mit 4 Textabbildungen 629

Lendle, L. und **Puhlmann, H.,** Über die Veränderung der Adrenalinempfindlichkeit der Gefäße des isolierten Kaninchenohrs bei Durchströmung mit gefäßwirksamen Stoffen und Kapillargiften 122

Lindemann, Bruno Artur, Das Verhalten der Kapillaren in der Umgebung des Blutegelbisses. Mit 7 Textabbildungen 490

Loeser, Arnold s. Paul Grumbrecht.

Seite

Mansfeld, G., Über Lokalisation und Wirkungsart des Thyroxins im Tierkörper 231

Mansfeld, G., Die Wanderung des Thyroxins durch Nerven und ihre Bedeutung für die Katalyse der Zellatmung 241

Martin, J. und **Valenta, A.**, Histamingehalt von Organen der weißen Ratte 305

Martin, J. und **Went, S.**, Einfluß der Sensibilisierung auf die Histamin-, Cholin- und Acetylcholinempfindlichkeit von Meerschweinchen und Ratten. Mit 1 Textabbildung 308

Metzger, Fr. s. H. Gebhardt.

Müller, Lothar s. Helmut Hindemith.

Myhrman, Gustaf und **Tomenius, John.** Über das Vorkommen von Histamin in menschlichen Faeces 14

Neuenschwander-Lemmer, N. s. F. X. Hausberger.

Noack, Christa s. Oskar Eichler.

Pidra, J. s. J. Lebduska und F. Pokorny.

Piribauer, K. s. S. Went und L. Kesztyüs.

Pokorny, F. s. J. Lebduska und J. Pidra.

Provinciali, Celso, Entgegnung auf die Arbeit „Untersuchungen über den Einfluß von Arsen- und Antimonverbindungen auf den Zuckerstoffwechsel" von H.-A. Oelkers (Band 191, Heft 5—6 dieses Archivs) 372

Puhlmann, Hans, Der Einfluß der gebräuchlichen Nahrungskonservierungsmittel auf die hormonalen Sexualfunktionen der weiblichen Ratte. Mit 4 Textabbildungen 136

Puhlmann, H. s. L. Lendle.

Quevauviller, André s. Jean Régnier.

Régnier, Jean, und **Quevauviller, André,** Quantitative Studie der Wirkung der Lokalanaesthetica auf den isolierten Nerven durch die Messung der Chronaxie (L. Lapicque). Energetische Formel der Erregbarkeit (H. Lassalle und L. Lapicque), unter Berücksichtigung der Veränderungen der elektrischen Resistenz der Nerven. Mit 9 Textabbildungen 48

Reinhold, A. s. P. Holtz und K. Credner.

Rex-Kiss, B. und **Zsadon, B.**, Einfluß der Monojodessigsäure auf die Blutzucker- und Blutmilchsäurewerte von Hunden 615

Richter, Rudolf, Über die Brechwirkung des Lobelanins, des Lobelanidins und eines weiteren Nebenalkaloids der Lobelia inflata 117

Richter, R., Ergänzende Anmerkungen zu meiner Arbeit: Untersuchungen über die spasmolytische Wirkung von Restalkaloiden aus der Lobelia inflata usw. 256

Seite

Richter, Rudolf, Untersuchungen über die Wirkungsweise des Nikotins am isolierten überlebenden Meerschweinchendarm 281

Richter, H. und **Thoma, H.,** Zentrale Wirkungen des Veratrins. Mit 4 Textabbildungen 622

Richter, H. s. A. Jarisch.

Riedel, H. s. A. Krautwald und G. Kuschinsky.

Rietschel, Hans-Georg, Zur Frage der Tachyphylaxie. Mit 7 Textabbildungen 454

Sanders, Ewald, Über Hemmungseffekte oxydierten Adrenalins. Mit 5 Textabbildungen 572

Santi, Renato, Die pharmakologische Wirkung neuer Alkaloide, die aus dem Erythrophleum Guineense und aus dem E. Couminga isoliert wurden. Mit 5 Textabbildungen 152

Schlechter, Maria s. Joachim Frey.

Schoppe, Eberhard, Über Veritolwirkung bei Gesunden nach körperlicher Belastung. Mit 1 Textabbildung 257

Schulze, Ernst und **Flach, Martin,** Über die Beziehungen zwischen Hypophysenvorderlappen, Schilddrüse und Nebenniere bei D-Avitaminose. Mit 3 Textabbildungen 727

Smiatek, Arnold, Vergleich der Tachyphylaxie von r- und l-Veritol und r-Ephedrin. Mit 1 Textabbildung 547

Steinmann, Bernhard, Über das Verhalten des zirkulierenden Blutes beim Herzkranken 24

Thoma, H. s. H. Richter.

Tomenius, John s. Gustaf Myhrman.

Valenta, A. s. J Martin.

Vollmer, Hubert, Bemerkungen zur Technik des Diureseversuches, erläutert an Hand einiger Coffeinversuche. Mit 1 Textabbildung... 483

Vollmer, Hubert und **Irmer, Alfons,** Untersuchungen an Ratten über die Beeinflussung der Harnmenge und der Mineralausscheidung durch subcutane Injektionen von destilliertem Wasser 474

Vollmer, Hubert und **Grünig, Herbert,** Versuche an Kaninchen über die Beeinflussung von Harnmenge und Harnchlor durch einmalige Injektionen von Coffein und von destilliertem Wasser 539

Weis, Wolfdietrich s. Heribert Konzett.

Went, S., Piribauer, K. und **Kesztyüs, L.,** Antithyreoglobulin und Antithyroxin. Mit 7 Textabbildungen 312

Seite

Went, S. und **Kesztyüs, L.,** Das Antiadrenalin. I. Mitteilung: Synthetische Herstellung eines Adrenalinantigens. Aminoadrenalin und Adrenalin-azoproteine 609

Went, S. s. J. Martin.

Werz, R. v. und **Homann, G.,** Über die Prüfung von Beruhigungsmitteln am Menschen. Mit 3 Textabbildungen 272

Wicht, Edo von, Über den Einfluß toxischer Chinindosen auf den Kohlehydratstoffwechsel des Kaninchens 332

Wottge, Kurt. Fortgesetzte Beobachtungen am bestrahlten Zellkern. Mit 7 Textabbildungen 96

Zachowski, J. und **Ehnimb, G.,** Die Wirkung des Veritols auf die zirkulierende Plasmamenge des normalen und kollabierten Hundes ... 325

Zsadon, B. s. B. Rex-Kiss.

Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der Universität Wien.

Beiträge zur Kenntnis der Wirkstoffe des Knoblauchs.

Von

Prof. Dr. med. u. phil. **Erhard Glaser** und Dr. **Robert Drobnik.**

(Eingegangen am 29. Mai 1939.)

Wie Drobnik[1] vor kurzem zusammenfassend berichtete, wurden schon in den ältesten Zeiten dem Knoblauch besondere Heilkräfte zugeschrieben und die Erfahrungen des Weltkrieges lenkten neuerdings die Aufmerksamkeit auf die therapeutische Verwendung desselben. Glaser[2] konnte letzthin zeigen, daß diese klinische Therapie auch schon vielfach im pharmakologischen Experiment gestützt werden konnte. Derselbe wies dabei aber auch darauf hin, daß die sehr häufig vergesellschaftet vorkommenden Biokatalysatoren Hormone, Vitamine und Fermente in dieser Hinsicht mit als Wirkstoffe in Betracht gezogen werden müssen. Bisher ging die Meinung im allgemeinen dahin, daß die im Knoblauch vorhandenen ätherischen Öle als Träger der heilenden Eigenschaften anzusprechen sind. In der Tat würden die ausgedehnten pharmakologischen Untersuchungen von Kolle, Laubenheimer und Vollmar[3], die eine abtötende und hemmende Wirkung auf Bakterien und Wachstum von Gewebskulturen sogar ohne Berührung feststellen konnten, dafür Zeugnis ablegen, weiter auch der Umstand, daß Lehmann[4] eindeutig nachweisen konnte, daß der von Öl befreite oder verarmte Preßsaft gar nicht oder kaum mehr wirksam ist. Schmidt und Marquardt[5, 6], die den antimykotischen Effekt ätherischer Öle in Lauchgewächsen und Kreuzblütlern auf pathogene Hautpilze untersuchten, konnten ebenfalls zeigen, daß Knoblauch, Zwiebel und Meerrettich schon in sehr geringen Drogenmengen auf Epidermophyton interdigitale wachstumhemmend bzw. abtötend wirken und führen dies ebenfalls auf in diesen Pflanzen frei oder glykosidisch gebunden vorkommende Öle zurück. Auch Böcker[7] konnte die Fernwirkung auf Staphylokokken neuerdings bestätigen. Nun haben schon seinerzeit E. Glaser und F. Prinz[8] bei aus Gummi, Malz, Meerrettich, Agaricus und Aspergillus hergestellten Oxydationsfermenten, sowie mit Hoden und Ovarialextrakten und Spermin eine bakterienfeindliche Wirkung feststellen können. E. S.

[1] Drobnik, Robert: Pharmac. Monatsh. **1938**. — [2] Glaser, Erhard: Wien. med. Wschr. **89**, 325 (1939). — [3] Kolle, Laubenheimer, Vollmar: Wissenschaftl. Woche Frankfurt, Probleme der Bakt., Immunitätslehre u. exper. Therapie **111**, 1 (1935). — [4] Lehmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **147**, 245 (1930). — [5] Schmidt, P. W., u. V. Marquardt: Zbl. Bakter. usw., Abt. I, Orig., **138**, 104 (1936). — [6] Schmidt, P. W.: Arch. Derm. (D.) **177**, 244 (1936). — [7] Böcker, Otto Erich: Z. Hyg. usw. **121**, 166 (1938). — [8] Glaser, Erhard, u. F. Prinz: Fermentforsch. **9**, 64 (1926).

Tumanowa[9] hat dann die Baktericidie von Prolan und Folliculin nach der Methode Rideal-Walker an Streptokokken und Bacterium coli nachgeprüft und ist zu denselben Resultaten gekommen. Es war daher schon deshalb naheliegend, auch beim Knoblauch an derartige Inhaltsstoffe zu denken. Zweck dieser Untersuchung war nun, mit Rücksicht auf die jetzt vielfach auf den Markt geworfenen Knoblauchpräparate, daraufhin beim Knoblauch nachzusehen, weiter aber auch, ob insbesondere den in denselben vorhandenen Fermenten an der baktericiden Wirkung ein entsprechender Anteil zukommt. Für die Hormonuntersuchung wurde derselbe Vorgang eingehalten, wie ihn E. Glaser und Konya[10, 11] gelegentlich von Untersuchungen über den Wirkungswert der Aphrodisiaka bei der Sellerie eingehalten haben, da auch beim Knoblauch eine mehrtausendjährige Empirie der Völker auf die Anwesenheit von Hormonen schließen ließ. Von 2 g Knoblauch auf 20 ccm Wasser wurde in der üblichen Weise ein Dekokt hergestellt, filtriert, eingedampft, in 1 ccm Wasser aufgenommen und nochmals filtriert. Es resultierte eine schwach gelbliche, dickliche, stark nach Knoblauch riechende Flüssigkeit, von der je 0,1 ccm vier kastrierten männlichen Bitterlingen injiziert, ein 6 Stunden währendes Hochzeitskleid gaben; es waren also in 2 g 10 Fischeinheiten männliches Hormon nachweisbar. Doch war dies im März vorgenommen; offenbar ein alter Knoblauch, denn im Juni erhielten wir von einem frischen von 2 g Knoblauch 25 Fischeinheiten, von einem italienischer Herkunft sogar 30 Fischeinheiten. Diese Schwankungen an Inhaltsstoffen sind bei Pflanzen nichts Auffälliges, da es bekannt ist, daß der Gehalt an denselben nach Boden, Klima, Düngung und nach der Dauer der Aufbewahrung wechselt. Zur Untersuchung auf weibliches Hormon wurde ebenfalls ein Dekokt 1 : 10 von 3 g in obiger Weise hergestellt. Es resultierten daraus 26 ccm, von denen 2 ccm in 6 Portionen in 2 Tagen injiziert im Allen-Doisytest eine Mäuseeinheit ergaben, also aus 3 g Knoblauch ergeben sich 13 Mäuseeinheiten. Auf Trockensubstanz (bei einem Wassergehalt von 64,2%) berechnet, sind demnach in 1 g 13 Mäuseeinheiten weibliches Hormon bzw. 15, 38, 45 Fischeinheiten männliches Hormon enthalten. Da nach E. Glaser und F. Ranftl[12] die physiologische Leistung einer Mäuseeinheit etwa 3,3 Fischeinheiten, gemessen an Johimbin, entspricht, so geht aus dieser Bestimmung (13 Mäuseeinheiten zu 38 bzw. 45 Fischeinheiten) hervor, daß männliche und weibliche Hormone im Knoblauch in einem Gleichgewichtszustande, also in äquivalenten physiologischen Wirkungspotenzen sich befinden. Es wäre wohl von Interesse zu wissen, für welche Pflanzen diese Hormonverteilung männlichen und weiblichen Typs auch noch zutrifft, insbesondere wie sich dies bei den monöcischen und diöcischen Pflanzengattun-

---

[9] Tumanova, E. S.: Akus. i. Gynec. **11**, 1361 (1936). — [10] Glaser, Erhard, u. A. Konya: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 219 (1936). — [11] Glaser, Erhard: Scientia Pharmaceutica, Jännerheft 1937. — [12] Glaser, Erhard, u. F. Ranftl: Klin. Wschr. **17**, 1120 (1938).

gen verhält und welche Schlüsse sich daraus für das Tierreich im Hinblick auf die geschlechtliche Entwicklungsgeschichte ergeben, aber der Zweck dieser Arbeit war, zu verfolgen, ob wirklich die ätherischen Öle im Knoblauch den einzigen Wirkungsfaktor darstellen, und ob nicht vielmehr am baktericiden Effekt vor allem auch die Fermente mitbeteiligt sind. Von den obenerwähnten biologisch wirksamen Inhaltsstoffen dieser Verwandtschaftsgruppe wurden die Fermente deshalb gewählt, weil sie sich leicht darstellen lassen. Die pflanzlichen Oxydasen unterscheiden sich offenbar nach ihrem chemischen Bau, weil sie nach Grüss[13], Raciborsky[14], Issajew[15], Reinitzer[16] verschiedene und gewöhnlich nicht alle Farbreaktionen geben. Schon die nativen Knoblauchzehen gaben auf der Schnittfläche folgende Reaktionen:

Mit Benzidineisessig	+ H_2O_2	Blaufärbung,
„ p-Phenylendiamin	+ H_2O_2	Violettfärbung,
„ Pyragallol	+ H_2O_2	Rotfärbung,
„ Hydrochinon	+ H_2O_2	Rotorangefärbung,
„ o-Kresol	+ H_2O_2	sehr schwache Färbung,
„ m-Kresol	+ H_2O_2	
„ p-Kresol	+ H_2O_2	
„ JH	+ H_2O_2	θ,
„ Tinctura Guajaci	+ H_2O_2	schwache Blaufärbung.

Fermentlösung und Preßsaft geben die gleichen Reaktionen. Bemerkt soll gleich hier werden, daß im Ruhestadium und auch beim Lagern, wie Guido Ajon[17] an unreifen Citronen gezeigt hat, sich das Verhältnis der Peroxydase zur Katalase ändert; bei unreifen ist viel Katalase und wenig Oxydase vorhanden. B. A. Rubin und K. Stratschitzky[18] konnten diese gegenseitige Beeinflussung auch beim Weißkohl zeigen, daß im Stadium der Reife der Vitamin-C-Gehalt und Katalasegehalt sinkt, während der Peroxydasegehalt sich in entgegengesetztem Sinne entwickelt. Man dürfte nicht fehlgehen, wenn man diesen Vorgang bei den pflanzlichen Früchten als allgemeingültig ansieht und darauf den verschiedenen Ausfall der Reaktionen zu verschiedenen Zeiten zurückführt.

Die Oxydationsfermente wurden zuerst nach den seinerzeitigen Vorschriften von Abderhalden[19] hergestellt, später aber so, wie sie derselbe[20] neuerdings angegeben hat, weil damit bessere Resultate erzielt

[13] Grüss: Wschr. Brauerei **18**, 310, 355 (1901). — [14] Raciborsky: Extr. du Bull. de l'acad. des Sciences de Cracovie **1905**. — [15] Issajew: Z. physiol. Chem. **42**, 132 (1904); **45**, 331 (1905). — [16] Reinitzer: Ebenda **61**, 352 (1909). — [17] Ajon, Guido: Riv. It. delle essenze e. profuni **8**, 87—91, 99—103, 111—117 (1926); Chem. Centralbl. **1**, 458 (1927). — [18] Rubin, B. A., u. K. Stratschitzky: Biochimija **1**, 343 (1936). — [19] Abderhalden: Angewandte chem. und phys. Methoden IV, 1, 1. Fermente, S. 319. — [20] Abderhalden: Fermentforsch. **15**, 93 (1936); **15**, 348 (1937).

wurden. 2 ccm des frischgepreßten und zentrifugierten Knoblauchpreßsaftes wurden mit 2 ccm Aceton versetzt, umgeschüttelt und zentrifugiert. Das überstehende Aceton wird abgegossen, die Eprouvette verkehrt auf Filterpapier gestellt, damit ja alles Aceton abfließen kann und überdies nachher die Wände des Zentrifugenröhrchens noch mit Filterpapier ausgewischt. Der Rückstand wurde in 5 ccm sterilem, destilliertem Wasser gelöst und mit dieser Lösung die Versuche angestellt. Die Versuche wurden in der Weise vorgenommen, wie sie E. Glaser und F. Prinz[8] seinerzeit beschrieben haben. Als Testbakterien wurden Bakterien von verschiedener Resistenz wie Bakterium coli, Streptokokken und Anthrax verwendet, und zwar wurden von einer 24stündigen Agarkultur eine Normalöse (2 mg) in 20 ccm sterilem, destilliertem Wasser durch längeres Schütteln fein verteilt und von dieser Aufschwemmung wieder eine Normalöse dem Agar zugefügt und in sterile Petrischalen ausgegossen. Es wurden in der Regel Aussaaten erzielt, die zählbar waren. Von der Fermentlösung wurde dem mit Bakterien beschickten Agar beim Ausgießen in die Petrischalen Mengen von 0,5, 1,00 und 1,5 ccm zugefügt. Bei jedem Versuch wurde je eine mit den verschiedenen Bakterien beimpfte Petrischale ohne Zusatz gelassen, um die Anzahl der Bakterien zu bestimmen. Alle Platten wurden durch 24 Stunden bebrütet und nachher die Zählung vorgenommen. Nach 48 Stunden wurden sie aus dem Grunde nochmals überprüft, um festzustellen, ob es sich etwa nur um eine Hemmung handelt. Das Ergebnis nach 48 Stunden zeigt nachfolgende Tabelle:

Art der Bakterien	Anzahl der Kolonien			
	Blindversuch	Fermentlösung		
		0,50	1,00	1,5
Coli	2400	1100	0	0
Streptokokken	2400	1900	10	0
Anthrax	3100	1700	0	0

Aus derselben geht hervor, daß die in 1 g Knoblauch enthaltenen Fermente schon hinreichen, um alle Bakterien abzutöten. Da von allen klinischen Beobachtern dem Knoblauch bei allen infektiösen, sowie auch chronischen und subacuten Darmkatarrhen (Glaser[2]) eine besondere Wirksamkeit zugeschrieben wird, demselben nach obiger Untersuchung baktericide Fermente innewohnen, ferner Hormone aufgefunden worden sind, bei denen Glaser und Prinz[8], später Tumanova[9] eine bakterienfeindliche Fähigkeit festgestellt haben, war im Preßsaft dieser Nachweis auch schon deshalb zu liefern, um zu sehen, wo die wirksamen Substanzen am meisten angereichert sind. Um den möglichen Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration p_H auf den baktericiden Effekt auszuschalten, wurde der schwach saure Preßsaft neutralisiert und dann zum Versuch verwendet. Das Resultat ist in folgender Tabelle niedergelegt:

Art der Bakterien	Blindversuch	Knoblauchpreßsaft			
		0,05	0,10	0,15	0,20
Coli	1920	320	0	0	0
Streptokokken	1450	400	160	0	0
Anthrax	2600	130	0	0	0

Aus dieser geht hervor, daß der Preßsaft, von dem sich aus 10 g Knoblauch durchschnittlich 5 ccm, also 50%, gewinnen lassen, und der dieselben Fermentreaktionen gibt, noch stärker baktericid wirkt als die Fermentlösung allein, was anzeigt, daß neben den Fermenten auch noch andere in dieser Beziehung wirksame Substanzen in demselben vorhanden sind. Wie bereits einleitend bemerkt wurde, führen die meisten Autoren und auch die Kliniker die Wirkung auf flüchtige Öle zurück. Nach Schmidt und Marquardt [5, 6] beseitigt Tierkohle, ebenso bakteriendichte Filter, das wirksame Moment. Letzthin glaubten Richard E. Vollrath, Lucile Walton und Carl C. Lindegren [21], welche das Acrolein auf die baktericide Wirkung als Luftwegdesinficienz prüften, wiederum dieses für die baktericide Wirkung des Knoblauchs verantwortlich machen zu müssen. Lehmann [4] gibt für den Preßsaft eine Ölkonzentration von 1 : 500 an. Um nun festzustellen, ein wie großer Anteil dem Öle bei dem wirksamen Effekt zukommt, wurde durch Wasserdampfdestillation aus 5 kg zerkleinerten, zerquetschten Knoblauchzehen 6,5 g Knoblauchöl (Siedepunkt etwa 80°) gewonnen und mit diesem die Versuche vorgenommen. Das Ergebnis ist aus nachstehender Tabelle ersichtlich:

Art der Bakterien	Blindversuch	Knoblauchöl			
		0,01	0,02	0,03	0,04
Coli	2600	106	0	0	0
Streptokokken	3100	320	0	0	0
Anthrax	2700	0	0	0	0

Daraus geht hervor, daß tatsächlich dem Knoblauchöl eine besondere baktericide Kraft innewohnt, allerdings zeigt sich auch hier wieder, wenn man die oben festgestellte baktericide Wirkung des Preßsaftes in Betracht zieht, welcher bei 0,15 ccm einer Ölkonzentration von 0,0003 entspricht, daß hier noch andere Faktoren eine Rolle spielen müssen, denn mit Knoblauchöl allein wird erst mit 0,02 ccm, also mit einer 70mal größeren Menge als im Preßsaft vorhanden ist, eine sterilisierende Wirkung erreicht. Dadurch wird wiederum deutlich, daß die anderen neben dem Knoblauchöl wirksamen Bestandteile eigentlich den Hauptanteil zur Gesamtwirkung beitragen. In Betracht hierfür kommen, wie bereits erwähnt, die Hormone.

[21] Vollrath, Richard E., Lucile Walton u. Carl C. Lindegren: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **36**, 55 (1937).

Weiter ist nach Kramer und Kingsbury[22], sowie Gander und Niederberger[23] baktericides Vermögen auch den Vitaminen zuzusprechen, von denen im Knoblauchpreßsaft Vitamin C durch Entfärbung der smaragdgrünen Lösung einer Mischung von Kupfersulfat und Ammonrhodanid mit Bildung eines weißen Niederschlages, sowie Vitamin B_1 nach dem Vorgang von Willstädt mit $NaNO_2$ und HCl diazotierten 2, 4-Dichloranilin durch Ausscheiden des rotbraunen in Äther übergehenden Farbstoff sich leicht nachweisen lassen. Bezüglich der Fermente schließlich wurde von uns in obigen Untersuchungen neuerdings ein beträchtliches Ausmaß an dieser Beteiligung festgestellt. Abgesehen davon, daß gerade alle diese Stoffe auch sonst noch wichtige spezifische Wirkungen entfalten, stellt somit der Knoblauch in bezug auf baktericides Vermögen eine Arzneikombination im Sinne Bürgis dar, wie sie in solcher Vollkommenheit eigentlich nur in natürlichen Drogen zustande kommt. Von den vielfältigen, jetzt auf den Markt kommenden Knoblaucharzneipräparaten wird man daher verlangen müssen, daß sie den Nachweis aller dieser Inhaltsstoffe erbringen.

Unsere vorstehenden Untersuchungen lassen auf einen beträchtlichen Reichtum des Knoblauchs an Oxydationsfermenten schließen, mit denen gewöhnlich Katalasen vielleicht sogar direkt proportional der Energie der Oxydation in Erscheinung treten. Nach dem obigen Ausfall der von uns durchgeführten Fermentreaktionen gehört nämlich der Knoblauch nicht zu den Polyphenoloxydasen-, sondern zu den Peroxydasepflanzen, von denen Stephan Huszak[24] sagt, daß dieses Peroxydasesystem in seiner Funktion und seinen Zusammensetzungen noch wenig bekannt ist. Für dasselbe ist von Onslow[25] die Anwesenheit einer hochaktiven Peroxydase als charakteristisch festgestellt worden. Das genauere Studium derselben führte dann Szent Györgyi[26] zur Entdeckung der Ascorbinsäure. Die Oxydation spielt sich nach den Untersuchungen Huszaks bei den Peroxydasepflanzen dabei in der Weise ab, daß der Sauerstoff mit der Ascorbinsäureoxydase reagiert, wobei ein Molekül der Ascorbinsäure unter gleichzeitiger Bildung von einem Molekül Peroxyd reversibel oxydiert wird. Das Peroxyd oxydiert nun unter Vermittlung der Peroxydase einen Benzopyranfarbstoff (Flavone, Vitamin B), welch letzterer wieder ein weiteres Molekül Ascorbinsäure reversibel oxydiert. Hierdurch werden nun alle vier Valenzen des Sauerstoffmoleküls zur Oxydation der Ascorbinsäure nutzbar gemacht, welch letztere nun wieder durch Dehydrasen bzw. ihren Wasserstoff, eventuell unter Vermittlung von SH-Gruppen (Hopkins[27]) reduziert werden können. Da die Reaktion über Peroxydase Flavon viel rascher verläuft

---

[22] Kramer, W., u. A. Neave Kingsbury: J. exper. Path. **5**, 300 (1924). — [23] Gander, D., u. W. Niederberger: Münch. med. Wschr. **18**, 12 (1936). — [24] Huszak, St.: Hoppe-Seylers Z. **247**, 239 (1937). — [25] Onslow, M. W.: Biochem. J. (Brit.) **13**, 1 (1919); **14**, 535 (1920); **15**, 107 (1921). — [26] Szent-Györgyi: Biochem. Z. **22**, 1387 (1928); J. biol. Chem. (Am.) **90**, 385 (1931); **111**, 211 (1935). — [27] Hopkins: Biochem. J. (Brit.) **30**, 1446 (1936).

als die Entladung des H_2O_2 durch Katalase, so würde letztere die Reaktion nicht stören, sondern höchstens dafür sorgen, daß sie nicht zu rasch verläuft. Dieser Vorgang der biologischen Oxydationen und Reduktionen bei Peroxydasepflanzen wurde übrigens neuerdings von H. Tauber[28] bestätigt. Zur Feststellung dieser Verhältnisse erschien es notwendig, beim Knoblauch auch auf Katalase nachzusehen, aber auch noch in Hinblick auf eine andere Ursache, bei welcher ähnliche Prozesse anzunehmen sind. Bekanntlich wird in letzter Zeit vielfach auf Beziehungen, die zwischen Krebs und Knoblauch bestehen und auf die erst jüngst wieder Müller[29] ausführlicher eingegangen ist, hingewiesen. Sauerbruch und Knake[30] haben schon durch Versuche an Ratten wahrscheinlich gemacht, daß durch Störungen in der Sexualfunktion eine besondere Krebsbereitschaft verursacht werden kann. Unterdessen wurde eine ganze Reihe von Stoffen aufgefunden, die krebserzeugend wirken (E. C. Dodds und Lawson[31]). R. Reding[32] gibt dabei direkt der Meinung Ausdruck, daß vielleicht eine Umwandlung von Sterinen in krebserzeugende Kohlenwasserstoffe durch die Wirkung von Fermenten erfolgen könnte, die besonders reichlich an einem Herd der Zellauflösung durch Nekrose vorhanden sind. Auch Loeb[33] hält eine autokatalytische Bildung von Wuchsstoffen für wahrscheinlich. Man nimmt dabei eine Dehydrierung als eine Ursache der natürlichen Krebsentstehung an und stellt sich vor, daß durch Zuführung von Sauerstoffakzeptoren und Wasserstoffdonatoren eine Verminderung oder Vernichtung der krebserzeugenden Eigenschaften dieser Stoffe erzielt werden könnte. Caspari[34] hat nun bei Fütterung von Knoblauch vor der Transplantation (Prophylaxe), wie bei der Nachfütterung (Heilversuch) bei Mäusen eine deutlich retardierende Wirkung auf das Wachstum, ja sogar völlige Immunität erreichen können. Hierbei war nicht einmal eine unmittelbare Berührung von Tumorbrei und Knoblauchbrei bei längerem Zusammenstehen nötig, um die Wachstumsenergie der Tumoren nach Überimpfung sehr stark gegenüber den Kontrollen herabzusetzen. Nach diesen Versuchen kommt dem Knoblauch eine krebswidrige Eigenschaft zu, wie ein solches antagonistisches Verhalten desselben auch Hintzelmann[35] gegen Vitamin D bei der Vigantolsklerose, einem genetisch und strukturell dem Tumorwachstum verwandten Prozeß, feststellen konnte, wobei schließlich immer angenommen werden muß, daß die Akzeptoren des Knoblauchs einmal die Tumorwuchsstoffe, das andere Mal das Vitamin D in unwirksame Hydroderivate überführen. In diesem Sinne

---

[28] Tauber, Henry: Enzymologia (Nd.) **1**, 209 (1936); Erg. Enzymforsch. **7**, 301 (1938). — [29] Müller, Adolf: Wien. klin. Wschr. **50**, 1614 (1937). — [30] Sauerbruch u. Knake: Z. Krebsforsch. **44**, 223 (1936). — [31] Dodds, E. C., u. W. Lawson: Nature (Brit.) **139**, 1068 (1937). — [32] Reding, R.: 2. int. Krebskongr. Brüssel **1**, 165 (1936). — [33] Loeb, L.: Amer. J. Canc. **30**, 52 (1937). — [34] Caspari, W.: Z. Krebsforsch. **43**, 255 (1936). — [35] Hintzelmann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 480 (1935).

sind wohl auch die Mitteilungen Makowskys[36], Cooks[37], Maisin und Pourbaix[38] aufzufassen, wenn sie auf diese Weise die Möglichkeit einer wirksamen Krebsbekämpfung sehen.

Zur Bestimmung des Katalasewertes im Knoblauch wurde nach Euler und Myrbäck[39] wie folgt vorgegangen. Zum enzymatischen Versuch wurde das Enzymmaterial in der Weise hergestellt, daß 0,2 g Knoblauch mit 0,5 g gewaschenen Seesand und 1—2 ccm 0,3 mol. Phosphatpuffer von p_H 7,2 (aus primärem Kaliumphosphat und sekundärem Natriumphosphat nach Sörensen bereitet) 2—5 Minuten verrieben, mit obiger Pufferlösung auf 7 ccm ergänzt, in ein passendes Gefäß gegossen und in Eis gekühlt wird. Sofort darnach wird (denn die Aktivität geht beim Stehen der Suspension zurück) zu dieser Suspension 45 ccm auf 0° abgekühlte, etwa 0,01 n H_2O_2-Lösung dazugegeben und von diesem Reaktionsgemisch sofort, dann nach 15 Minuten, 1 und 2 Stunden 10 ccm in 10 ccm 4 n H_2SO_4 einpipettiert und mit 0,01 n $KMnO_4$-Lösung titriert. Der Verbrauch an 0,01 n $KMnO_4$ war: sofort 6,9 ccm; nach 15 Minuten 6,5 ccm, nach 1 Stunde 4,8 ccm und nach 2 Stunden 3,5 ccm; bei einem Knoblauch vorjähriger Ernte waren die entsprechenden Zahlen: sofort 6,3 ccm, nach 15 Minuten 4,4 ccm, nach 1 Stunde 2,7 ccm, nach 2 Stunden 1,5 ccm. Demnach beträgt der Katalasegehalt, ausgedrückt in ccm 0,01 n $KMnO_4$ für 1 g Trockensubstanz: sofort 103,5 ccm, nach 15 Minuten 97,5 ccm, nach 1 Stunde 72 ccm, nach 2 Stunden 52,5 ccm; beim Knoblauch vorjähriger Ernte: sofort 94,5 ccm, nach 15 Minuten 66 ccm, nach 1 Stunde 40,5 ccm, nach 2 Stunden 22,5 ccm.

Beim Vergleich mit anderen, bisher nur spärlich in der Literatur vorliegenden Daten, wie die von Iwanoff[40] über Samen und Früchte, ergeben die beim Knoblauch in analogen Untersuchungen erhobenen Werte bedeutend höhere, oft das Zehnfache betragende Zahlen. Diese geben nach den herrschenden Anschauungen einen deutlichen Hinweis auf die Energie dieses Prozesses; anderseits sind sie geeignet, die theoretischen Erwägungen der mit der Krebsfrage sich beschäftigenden Autoren dadurch zu stützen, daß die Peroxydasepflanze Knoblauch, insbesondere in frischem Zustande, in ihren Inhaltsstoffen lebhaft ineinandergreifende Sauerstoffakzeptoren und Wasserstoffdonatoren besitzt und dadurch befähigt ist, eine krebsfeindliche Aufgabe zu erfüllen.

Zusammenfassung.

Im Knoblauch, der nach dem Ausfall der Fermentreaktionen zu den Peroxydasepflanzen zu rechnen ist, wurden männliche und weibliche

---

[36] Makowsky: Z. Immunitätsforsch. **89**, 423 (1936). — [37] Cook, I. W.: Bull. Soc. Chem. France **4**, 792 (1937); Amer. J. Canc. **29**, 29 (1937). — [38] Maisin u. Pourboix: 2. int. Krebskongr. Brüssel **1**, 389 (1936). — [39] v. Euler, K. Myrbäck u. Signe Myrbäck: Hoppe-Seylers Z. **186**, 213 (1930). — [40] Iwanoff, M. N.: Biochem. Z. **254**, 71 (1932).

Hormone in physiologisch-äquipotentiellen Verhältnissen nachgewiesen. Er besitzt in seinen Fermenten lebhaft ineinandergreifende Sauerstoffakzeptoren und Wasserstoffdonatoren; insbesondere deutet auch der hohe Katalasegehalt auf eine besondere Energie der Oxydationsbeeinflussung hin. Die Annahme einer krebsfeindlichen und antisklerotischen Wirkung erhält dadurch eine Stütze. Im Hinblick auf die von den Klinikern immer wieder festgestellte Wirksamkeit desselben bei infektiösen Darmkatarrhen konnte gezeigt werden, daß für das baktericide Vermögen die Knoblauchöle nicht allein verantwortlich sind, sondern Hormone, Vitamine, vor allem Fermente daran mitbeteiligt sind, vielleicht sogar den Hauptanteil für sich beanspruchen dürfen, wobei sie im Sinne einer Arzneikombination Bürgis zur Geltung kommen. Vermöge seiner Inhaltsstoffe scheint er als Nahrungsstoff schon befähigt, therapeutisch zu wirken. Aus Knoblauch bereitete Arzneipräparate müssen außer den Knoblauchölen auch die Biokatalysatoren Hormone, Vitamine und Fermente enthalten.

Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität München
(Direktor: Professor Dr. W. Stepp).

Vitamin C und Grundumsatz.

Von

E. Altenburger und **F. Diehl.**

(Eingegangen am 7. Juni 1939.)

Stoffwechseluntersuchungen bei gestörtem Vitamin-C-Haushalt sind schon vor Jahren der Gegenstand klinischer und experimenteller Untersuchungen gewesen, die seit der Synthese des Vitamin C neue Möglichkeiten und Impulse erhielten. Abderhalden konnte bei Meerschweinchen weder während des Skorbuts, noch bei skorbutischen Tieren durch die Verabfolgung antiskorbutischer Mittel, eine Beeinflussung des von ihm als normal befundenen Stoffwechsels beobachten. Nach ihm sahen Knipping und Kowitz, ferner auch Gröbels, Caspari und Motzkowski eine Herabsetzung des vorher von ihnen beim Skorbut von Menschen und Tieren meist erhöht gefundenen Stoffwechsels nach Vitamin-C-reicher Kost. Jarussowa, Törnblom, Söderström und Törnblom, Scoz, Cattaneo und Gabrielli fanden im Gegensatz dazu eine Verminderung des Sauerstoffverbrauchs beim skorbutkranken Meerschweinchen. In jüngster Zeit hat sich Baucke noch einmal mit dieser Frage beim Vitamin-C-frei ernährten Meerschweinchen befaßt. Er sah in allen Fällen des Meerschweinchenskorbuts ein Absinken des Gasstoffwechsels unter die Norm. Er erklärt die von anderen Autoren gefundene Stoffwechselerhöhung als nur ein zufälliges Zusammentreffen mit den vom Organismus getroffenen Gegenregulationen. Gleichzeitig mit diesen unterschiedlichen Befunden wurde in letzter Zeit die Frage aufgeworfen, ob dem Vitamin C eine direkte antithyreoidale Wirkung zukommt oder nicht. Wir selbst (Altenburger) haben schon einmal in einer früheren Veröffentlichung zu diesem Problem Stellung genommen.

Diese vielen divergierenden Meinungen nahmen im allgemeinen ihren Ausgang vom skorbutkranken Organismus, und zwar vornehmlich dem des Meerschweinchens. Nur sehr wenige Autoren versuchten eine Klärung all dieser zur Diskussion stehenden Fragen am stoffwechselgesunden Organismus. Calcinai und Galigani sowie Mosonyi und Rigó fanden bei Vitamin-C-Zulage zur Normalkost einen erhöhten O_2-Verbrauch. Oehme fand bei Verabfolgung „größerer" Dosen Ascorbinsäure (25 mg) eine leichte Steigerung, bei Applikation kleiner Dosen (2—4 mg) eine Senkung des Grundumsatzes. Kreitmair zeigte, daß durch kleine Dosen Ascorbinsäure die gaswechselsteigernde Eigenschaft des Schilddrüsenhormons verstärkt und durch große

vermindert wird. Strieck fand bei Stoffwechselversuchen an Hunden eine Steigerung des Stoffwechsels, die maximal bis 42% betrug. Die Applikationsart, ob peroral, subcutan oder intravenös war hierbei gleichgültig. Die Steigerung war 2 Stunden nach Verabfolgung des Vitamin C abgeklungen.

Beobachtungen über die Beeinflussung des normalen menschlichen Stoffwechsels sind von Strieck mitgeteilt worden, der in einigen Fällen eine sichere Steigerung, bei anderen keinerlei Veränderungen fand. Bei Menschen mit gesteigertem Stoffwechsel ließ die Ascorbinsäure jeden Einfluß vermissen, was im Einklang mit den von Löhr mitgeteilten klinischen Beobachtungen bei Basedow und Thyreotoxikosen steht. Armentano, Bentsáth, Hámori und Koranyi beobachteten im Gegensatz zu Strieck bei Normalen eine Grundumsatzsenkung, und zwar um 6—8%, beim Myxoedem einen Anstieg um 3,2%, beim Basedow keinerlei gesetzmäßige Veränderung, alles in allem also keine wesentliche Beeinflussung. Diese unterschiedlichen Befunde veranlassen uns, unsere schon vor längerer Zeit an stoffwechselgesunden Menschen gewonnenen Resultate im folgenden kurz mitzuteilen.

Wir gingen nun bei unseren Untersuchungen folgendermaßen vor: An stoffwechselgesunden Patienten, bei denen durch entsprechende Vorversuche eine nur äußerst geringe Schwankungsbreite des Ruhenüchternwertes (bis zu höchstens 5%) festgestellt wurde, wurde nach Bestimmung ihres Ruhenüchternwertes an einem Tage während 4 Stunden halbstündlich mit der Knippingschen Apparatur der Grundumsatz bestimmt, und zwar jeweils in Doppelbestimmungen, während die Patienten weiter nüchtern blieben. Am folgenden Tage erhielt der Patient nach Bestimmung des Ruhenüchternwertes 300 mg Ascorbinsäure (Cebion Merck) intravenös injiziert. Sonst wurde wie am Vortage verfahren. Unter diesen Bedingungen konnten wir (vgl. Tabelle) nun, abgesehen von minimalen innerhalb der Norm liegenden Schwankungen keinerlei nennenswerte Beeinflussung des Stoffwechsels feststellen.

Tabelle 1.

Zeit	Leerversuch		Nach 300 ccm Ascorbinsäure	
	O_2 ccm in 10 Min./kg	CO_2 ccm in 10 Min./kg	O_2 ccm in 10 Min./kg	CO_2 ccm in 10 Min./kg
Nüchternwert	35,83	29,10	35,51	29,89
Nach $^1/_2$ Std.....	36,12	28,94	36,31	32,42
„ 1 „	35,87	28,94	36,53	31,52
„ $1^1/_2$ „	36,52	29,09	35,42	31,92
„ 2 „	36,80	28,94	35,98	30,90
„ $2^1/_2$ „	36,62	28,63	36,30	31,41
„ 3 „	37,80	29,54	36,42	31,62
„ $3^1/_2$ „	37,12	29,22	36,54	31,52
„ 4 „	37,42	29,61	35,63	30,20

Es bestand nun noch die Möglichkeit, daß die fehlende Beeinflussung des Stoffwechsels durch die Ascorbinsäure damit zusammenhängen konnte, daß die zugeführten Vitamin-C-Mengen vielleicht zunächst einmal zur Auffüllung der Depots im Organismus verbraucht würden. Um diesem Einwand zu begegnen, wurde an einer Reihe von Versuchspersonen vor Beginn der Versuche der Vitamin-C-Spiegel im Blut bestimmt und bei vorhandenen erniedrigten Werten erst normalisiert. Aber auch dann, bei normalem Blutgehalt an Vitamin C, zeigte sich kein nennenswerter Einfluß auf den Stoffwechsel. Also sowohl an dem im Vitamindefizit befindlichen als auch an dem mit Vitamin C abgesättigten stoffwechselgesunden Organismus ließ sich keine Einwirkung auf den Stoffwechsel beobachten.

Nach diesen Feststellungen am ruhenden Organismus dehnten wir unsere Untersuchungen auch auf den tätigen Organismus aus. Wir ließen zu diesem Zweck zunächst einmal stoffwechselgesunde Patienten mit normalem Vitamin-C-Blutspiegel dosierte körperliche Arbeit an einem Fahrradergometer leisten, um dann die gleiche Arbeit am nächsten Tage nach intravenöser Zufuhr von 300 mg Cebion (Merck) wiederholen zu lassen. Der Vergleich von Sauerstoffverbrauch und Kohlensäureproduktion zwischen dem Versuch mit und dem ohne Cebion ergab keine meßbaren Unterschiede. Ebenso zeigte auch die spezifisch-dynamische Eiweißwirkung keinerlei Beeinträchtigung, wenn sie vergleichweise bei gleichzeitiger intravenöser Vitamin-C-Verabfolgung geprüft wurde. Auch am tätigen Organismus war ebenso wie am ruhenden kein Unterschied festzustellen zwischen Patienten, bei denen ein Vitamin-C-Defizit bestand und denen mit ausgeglichenem Vitamin-C-Haushalt. In jedem Falle blieb die zugeführte Ascorbinsäure ohne Einfluß auf den Grundumsatz.

Wir wissen nun aus früheren Untersuchungen des einen von uns (Altenburger), daß der Angriffspunkt der Ascorbinsäure im intermediären Stoffwechsel, was besonders für den Kohlehydratstoffwechsel gilt, in der Leber zu suchen ist. Auch Fischer und Oehme kommen bei ihren Untersuchungen über die Beeinflussung der thyreotoxischen Kreatinurie durch Vitamin C zu dem Schluß, daß bei Muskelarbeit die Ascorbinsäure ihre Wirkung nicht unmittelbar entfaltet, sondern auf dem Umweg über den Glykogenhaushalt. Diese Tatsachen erklären nicht nur das Fehlen jeglicher Einwirkung der Ascorbinsäure auf den normalen, sondern auch auf den gesteigerten Stoffwechsel. Die von Armentano, Bentsáth, Hámori und Koranyi mitgeteilten, durch Vitamin C bewirkten Veränderungen erscheinen uns insofern als nicht kausal auf die Ascorbinsäure bezüglich, als sie innerhalb der Fehlergrenzen der Methodik liegen.

Zusammenfassung.

Zusammenfassend möchten wir also feststellen, daß intravenös zugeführte Ascorbinsäure beim stoffwechselgesunden ruhenden Menschen

jede nennenswerte Beeinflussung des Grundumsatzes vermissen läßt, unabhängig von dem jeweiligen Vitamin-C-Bestand des Organismus. In gleicher Weise bleiben sowohl beim Menschen mit als auch ohne Vitamin-C-Defizit der körperlich arbeitende und der zum Zwecke der Prüfung der spezifisch-dynamischen Eiweißwirkung mit Eiweiß belastete Organismus durch intravenös verabfolgte Ascorbinsäure unbeeinflußt. Diese Tatsache findet in dem hinsichtlich ihrer Stoffwechselwirkung in der Leber zu suchenden Angriffspunkt der Ascorbinsäure ihre Erklärung.

Literatur.

Abderhalden: Pflügers Arch. **191**, 278 (1921). — Altenburger: Klin. Wschr. **1936**, Nr. 32, S. 1129. — Armentano, Bentsáth, Hámori u. Koranyi: Z. exper. Med. **96**, 321 (1935). — Baucke: Pflügers Arch. **241**, 392 (1938) — Calcinai u. Galigani: zit. nach Ber. Physiol. **82**, 597 (1935). — Caspari u. Motzkowski: Berl. klin. Wschr. **1913**, S. 1515. — Fischer u. Oehme: Klin. Wschr. **1937**, 1453. — Gröbels: Berl. klin. Wschr. **1913**, S. 1515. — Jarussowa: Biochem. Z. **179**, 104 (1926). — Knipping u. Kowitz: Münch. med. Wschr. **1923**, S. 46. — Kreitmair: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **176**, 326 (1934). — Löhr: Ebenda **180**, 344 (1936). — Mosonyi u. Rigó: Z. physiol. Chem. **222**, 100 (1933). — Oehme: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 558 (1936). — Scoz, Cattaneo u. Gabrielli: Enzymologia **3**, 29 (1937). — Strieck: Biochem. Z. **277**, 279 (1935). — Söderström u. Törnblom: Skand. Arch. Physiol. (Berl. u. Leipz.) **66**, 67 (1933). — Törnblom: Ebenda **68**, 171 (1934). —

Aus der I. Medizinischen Klinik des Kgl. Serafimer Lazarettes zu Stockholm.
(Vorstand: Prof. Dr. Nanna Svartz).

Über das Vorkommen von Histamin in menschlichen Faeces.

Von

Gustaf Myhrman und John Tomenius.

(Eingegangen am 12. Juni 1939.)

1. Einleitung.

Schon im Jahre 1913, auf einem frühen Stadium der Geschichte der Histaminforschung, gelang es Eppinger und Gutmann aus Faeces Histamin zu isolieren, jedoch nur nach voraufgehender Zufuhr reichlicher Mengen Histidin. Später sind wiederholt Versuche gemacht worden, im Stuhl Histamin nachzuweisen und es mit verschiedenen pathologischen Zuständen in Zusammenhang zu setzen. Meakins und Harrington fanden kein Histamin. Koessler und Hanke arbeiteten mit der Paulyschen Reaktion, die den Nachteil hat, nicht für Histamin spezifisch zu sein, und die außerdem selbst bei Vorhandensein von Histamin negativ ausfallen kann. Gegen die Arbeiten dieser Autoren lassen sich also schwerwiegende Einwände erheben. Mellanby war der Ansicht, daß gebildetes Histamin im Dickdarm zerstört werde. Åkerblom meint, daß im Darmkanal entstandenes Histamin die Ursache der sog. Futterrehe des Pferdes darstellt. Loeper sowie Mahoudeau und Thomas haben, wie auch Koessler und Hanke, mit der Paulyschen Reaktion gearbeitet und meinen, im Stuhl Histaminmengen von 0—100 mg pro kg gefunden zu haben.

Die Triebfeder der Versuche, über die hier berichtet werden soll, war der Wunsch, die Frage von dem Vorkommen des Histamins im Stuhl, und hier besonders die Frage von der Rolle des Histamins bei den ulzerösen Kolitiden, mit neueren Methoden anzugreifen. Dabei haben sich verschiedene bemerkenswerte Umstände bezüglich des Vorkommens des Histamins im Stuhl ergeben.

2. Methodik.

In ihren Hauptzügen fußt unsere Methodik auf der von Barsoum und Gaddum angegebenen.

Ein Meßzylinder mit 40 ccm 10%iger Trichloressigsäure wird mit Stuhl auf 50 ccm aufgefüllt, worauf die Mischung in ein anderes Gefäß gebracht und 10 bis 15 Minuten lang sorgfältig mit einem Glasstab verrührt wird. Die Mischung wird darauf 2 Stunden lang stehengelassen, eine Zeitspanne, die wir manchmal jedoch aus arbeitstechnischen Gründen überschreiten mußten. Dann wird die Mischung 5 Minuten lang energisch zentrifugiert, die Flüssigkeit abgefüllt und der Bodensatz

mit Trichloressigsäure verrührt und wieder 5 Minuten lang zentrifugiert, worauf die hierbei erhaltene Flüssigkeit mit der beim ersten Zentrifugieren abgefüllten zusammengegossen und im Büchner-Trichter durch fest gepreßte Filtrierpapiere filtriert wird. Die filtrierte Flüssigkeit betrug im allgemeinen etwa 80 ccm und war dunkelbraun, klar oder etwas trübe. Sie wird im Separiertrichter einige Male mit Äther extrahiert bis zu neutraler Reaktion auf Kongopapier. Es werden zumeist im ganzen 100 ccm Äther verwendet. Darauf wird konzentrierte HCl hinzugefügt, bis die Flüssigkeit 2n ist, und dann 2 Stunden lang im Wasserbade gekocht. Der Extrakt wird darauf unter Vakuum mit einer Kapillare bis zur Trockenheit eingedampft. Wenn man einen Trockenextrakt erhalten hat (was meistens etwa 2 Stunden erforderte), wird 50 ccm 85%iger Alkohol hinzugegeben und der Extrakt angerührt und durch Destillieren im Wasserbade unter Vakuum bis zur Trockenheit eingedampft. Es wird wieder dieselbe Menge Alkohol hinzugefügt und destilliert. Die jetzt noch vorhandene Trockensubstanz wird mit 15 ccm 99,5%igem Alkohol (der über NaCl verwahrt worden ist) versetzt und durch ein kleines Filtrierpapier filtriert. Das Filter wird drei- bis viermal mit 99,5%igem Alkohol ausgewaschen. Das Filtrat stellt jetzt eine klare, zumeist dunkelbraune Flüssigkeit dar, die darauf zwecks längerer oder kürzerer Aufbewahrung bis zur Trockenheit eingedampft wird. Zur Titrierung wird die Trockensubstanz in 3 ccm destilliertem Wasser gelöst, in kleine, 6—7 ccm fassende Röhrchen gebracht, mit 0,1 nNaOH mit Lackmus als Indikator neutralisiert und durch ein kleines Filtrierpapier filtriert, worauf destilliertes Wasser bis auf 5 ccm aufgefüllt wird.

Gewisse Punkte erfordern eine Erörterung. Code hat in einer Modifikation der Methode von Barsoum und Gaddum die Ätherextraktion fortgelassen. Die manchmal bedeutenden Fettmengen im Stuhl motivieren jedoch, unserer Ansicht nach, die Beibehaltung dieser Extraktionsprozedur. Bei großem Fettgehalt des Stuhls kann es sogar angebracht sein, die Stuhl-Trichloressigsäuremischung vor der Filtrierung mit Äther zu schütteln. Beim Schütteln mit Äther bildet sich leicht eine flockige, dickflüssige Schicht zwischen der Ätherschicht und dem Extrakt. Diese Schicht darf nicht weggegossen werden, sondern wird eine gute Weile stehengelassen, wobei sich aus ihr reiner Extrakt absetzt. Bei der Behandlung unreiner Filtrate ist es vorteilhaft, beim ersten Zusetzen von Äther sehr vorsichtig zu schütteln, wodurch die Entstehung einer breiten Zwischenschicht vermieden wird.

Die von Code gleichfalls fortgelassene Extraktion mit absolutem Alkohol haben wir, u. a. im Hinblick auf den Kaliumgehalt des Stuhles, beibehalten.

Die letzte Filtrierung (nach der Neutralisierung) erwies sich als zweckmäßig, da die Extrakte vor derselben oft durch Partikelchen getrübt waren, die an dem Darmpräparat haften blieben und möglicherweise Störungen der Kontraktionen veranlassen konnten.

Die Titration wurde in der üblichen Weise an überlebendem Meerschweinchendarm vorgenommen. Wir verwendeten einen kleinen Behälter in Gestalt einer U-förmigen Röhre mit einem gröberen Schenkel, der etwa 9 ccm faßte, und einem schmäleren, knapp 1 ccm fassenden. Der schmälere Schenkel war mit einem Zweiwegehahn versehen, der teils mit dem Tyrodebehälter und teils mit einem Wasserstrahlsauger verbunden war. Mit Hilfe

dieser Vorrichtung ließ sich die Flüssigkeit im Behälter sehr schnell erneuern. Als Histaminstandard wurde Histamin „Roche" in Ampullen verwendet. Durch Hinzufügen bekannter Mengen Histamin „Roche" versuchten wir uns ein Bild von dem Histaminverlust bei dieser Extraktionsmethodik zu verschaffen.

Tabelle 1.

Datum	Stuhlmenge ccm	Histaminmenge in der Kontrollprobe γ/ccm Stuhl	Berechnete Histaminmenge nach Zusatz γ	Gefundene Histaminmenge γ	Verlust %
16. VIII.	5	0	0,35	0,2—0,3	28—40
27. IX.	10	2,2	42,2	32	24
1. X.	10	2	32	24	25
1. XI.	10	0,8	50,8	41,3	19

Es stellte sich heraus, daß die Verluste an die ersten Extraktionsprozeduren gebunden waren, dagegen nicht an die Alkoholextraktionen wie in Codes Versuch zur Bestimmung des Bluthistamins.

Obwohl die Verluste also ziemlich groß waren, wurde bei Doppelproben sehr gute Übereinstimmung gefunden, wie es aus der nachstehenden Tabelle 2 hervorgeht.

Tabelle 2.

Datum	Fall	Histamingehalt in γ/ccm		Datum	Fall	Histamingehalt in γ/ccm	
		Probe	Kontrollprobe			Probe	Kontrollprobe
14. IX.	I. T.	2	2,5—4	17. X.	K. B. S.	12	10—14
14. IX.	E.	8	8	10. X.	S.	3	3
20. IX.	A. G.	0,2	0,2	10. X.	S. S. S.	0,1	0,25
21. IX.	G. M.	0	0,1				

Wir haben ferner der Frage Aufmerksamkeit geschenkt, ob es denkbar wäre, daß die Methode — besonders das Kochen mit starker Säure und das Eindampfen des sauren Extraktes — die Entstehung von Histamin aus eventuell im Substrat vorhandenem Histidin bewirken könnte. Wir wiesen diese Möglichkeit zurück, und zwar aus folgenden Gründen:

1. Wir haben eine 4%ige Histidinlösung („Ulcustidin") mit HCl in der gleichen Konzentration wie bei unseren Faecesextraktionen gekocht, sie bis zur Trockenheit eingedampft, mit Alkohol extrahiert und titriert. Der Histamineffekt war äußerst gering. Aus 1 g Histidin erhielt man in einem Falle 3,75 γ, in einem anderen 20 γ, was bedeutend weniger ist als der Histamineffekt der unbehandelten Lösung!

2. Wir haben in unbehandeltem Stuhldialysat einen Histamineffekt nachgewiesen.

3. Wir haben säurebehandelte und nicht säurebehandelte Proben verglichen und auch nach Atropinisierung den gleichen Histamineffekt gefunden.

Tabelle 3.

Datum	Fall	Mit Säure γ	Ohne Säure γ	Bemerkungen
11. X. 1938	E.	20	20	
17. II. 1939	E.	0	0	Dialysat: 0

3. Identitätsreaktionen.

Obwohl die von uns verwendete Methode, die in allem wesentlichen auf derjenigen von Barsoum und Gaddum fußt, es sehr wahrscheinlich machen dürfte, daß die in den Extrakten vorhandene biologische Wirkung auf den Meerschweinchendarm wirklich durch Histamin bedingt ist, haben wir immerhin gewisse Versuche ausgeführt, um dies noch weiter zu illustrieren.

Ein Zusatz von Azetylcholin zu der unbehandelten Stuhlprobe brachte keine Veränderung der Aktivität des fertigen Extrakts im Vergleich zu einer Kontrollprobe, woraus hervorgeht, daß in der Probe eventuell vorhandenes Azetylcholin während der Extraktionsprozedur zerstört wird. (Dagegen zeigte es sich, daß zweistündiges Kochen mit 2 n HCl die Aktivität der Kontrollprobe nicht vernichtete.) Auch ein Zusatz von Kaliumjodid führte keine Veränderung dieser Art herbei; in diesem Falle bildete sich nach Zusetzen von 2 g KJ zur Probe in dem eingedampften Extrakt eine feste Kruste von ausgefälltem Salz, das also nicht in die Alkohol-absolutus-Fraktion übergegangen war.

Das in unseren Extrakten vorhandene wirksame Prinzip wies, außer seiner charakteristischen atropinfesten Wirkung auf überlebenden Meerschweinchendarm, ferner auch die für Histamin bezeichnende Eigenschaft auf, die zuerst von Feldberg und Schilf in bezug auf das Verhalten gegenüber Hühnercoecum gefunden wurde, deren Gültigkeit auch für den Meerschweinchendarm aber von Barsoum und Gaddum nachgewiesen ist, nämlich, daß große Mengen Histamin den Darm für eine erneute Histamindosis unempfindlich machen, während er z. B. auf Azetylcholin nach wie vor reagiert. Ein mit Histamin ($2\,\gamma$/ccm Suspensionsflüssigkeit $^1/_2$ Stunde lang) behandeltes Darmstück sprach auf Azetylcholin stark an, dagegen sehr schwach auf Extrakt oder auf Histamin. Die Wirkung entsprach in beiden Fällen etwa 1% der normalen.

Wir konnten auch mit einem Extrakt bei einer narkotisierten Katze eine Blutdrucksenkung hervorrufen, selbst nach Atropinisierung *. Eine starke Stütze dafür, daß es sich wirklich um Histamin handelt, liegt ferner in dem Umstande, daß es uns gelang, durch Dialyse und nachfolgende Extraktion des Dialysates einen Extrakt herzustellen, von dem auch schon $2{,}5\,\gamma$ deutliche physiologische Wirkung gaben.

* Für freundliche Hilfe bei diesem Versuch möchten wir Herrn Dr. Tage Rudberg danken.

Aus dem oben angeführten erscheint es uns sehr glaubhaft, daß der in unseren Stuhlextrakten gefundene Wirkstoff in der Tat Histamin ist.

4. Menge, Dialysierbarkeit und Haltbarkeit des Faeceshistamins.

Die gefundenen Histaminmengen wiesen große Schwankungen auf. In einer geringen Zahl von Fällen erhielt man überhaupt keinen Histamineffekt. In der Mehrzahl der Fälle jedoch handelt es sich um Werte von bis zu 5 γ pro ccm Stuhl, doch wurden in mehreren Fällen bedeutend größere Mengen gemessen. Der höchste von uns gefundene Wert betrug 256 γ/ccm. Wir beschlossen, die Menge in γ/ccm auszudrücken.

Wir haben Dialyseversuche mit Kollodiumhüllen angestellt, die wir nach dem von Tarras-Wahlberg angegebenen Verfahren aus 4%igem Collodium pro analysi „Merck" herstellten. Diese Versuche ergaben, daß der größte Teil des Histamins in dialysierbarem Zustande vorhanden ist; wir konnten in den verschiedenen Versuchen 67—95% im Dialysat wiederfinden.

Dieser Umstand, daß das Histamin sich so leicht durch Dialyse gewinnen läßt, hat uns dazu geführt, uns in Zukunft darauf einzurichten, statt der Extraktion die Dialyse zu verwenden. Unsere bisherige Arbeit fußt jedoch fast ausschließlich auf der obenerwähnten Extraktionsmethode.

Wir haben großes Gewicht darauf gelegt, den Stuhl in frischem Zustande zu untersuchen. Dies scheint jedoch, allem Anschein nach, nicht von so großer Bedeutung zu sein, indem die Histaminmenge bei Aufbewahrung der Probe bei Zimmertemperatur nicht nennenswert abzunehmen scheint.

Tabelle 4.

Datum	Fall	Histaminmenge in γ/ccm			
		frisch	3 Std.	24 Std.	48 Std.
14. IX.	J. T.	2,5—4	2		
20. IX.	A. G.	0,25	0,25		
23. IX.	G. M.	0,1		0	
1. XI.	E.	95—108			100

5. Das Faeceshistamin in normalen Fällen.

Wir haben eine Reihe von Normalfällen untersucht — Menschen, die sich gesund fühlten und gemischte Kost verzehrten, und deren Stuhl in makro- und mikroskopischer Hinsicht normal war. Wir verfügen über 26 Bestimmungen an 13 Personen, sämtlich männlichen Geschlechts.

Sämtliche Werte liegen zwischen 0 und 4 γ pro ccm Stuhl. In 2 Fällen wurde kein Histamin gefunden. Der Durchschnittswert sämtlicher Bestimmungen beträgt 1,3 γ.

Wir haben in einem Falle in anscheinend normalem Stuhl eines gesunden 2jährigen Mädchens einen hohen Histaminwert beobachtet

(60 γ/ccm). Eine weitere Probe wies Anzeichen bedeutender Gärung auf. Wir haben die Probe deshalb nicht in unsere Tabellen mit aufgenommen.

6. Das Faeceshistamin bei Colitis ulcerosa.

Das Studium der Histaminverhältnisse im Stuhl bei Colitis ulcerosa gab, wie in der Einleitung erwähnt, den Anstoß zu dieser Arbeit. Unsere Ergebnisse gehen aus der nachstehenden Tabelle hervor.

Tabelle 5.

Fall	Datum	Histamin γ/ccm	Bemerkungen über die Art der Probe
Wallin	4. IX.	2	Graue, stinkende Suppe
„	5. IX.	2	„ „ „
Fromm	6. IX.	4	„ „ „
Erikson	14. IX.	8	Dünnflüssiger Stuhl, der bei der Rektoskopie aus dem Rektum herausfloß
Johansson	24. X.	0,6	Grünschwarze Suppe
„	24. X.	1,0	Grünschwarze Suppe
„	16. XI.	1,5	Grauschwarze, stinkende Suppe
Andersson	29. VIII.	2,5	Coecostomiefall. Stuhl aus der Coecostomie
Claesson	16. IX.	0,4	Coecostomiefall. Eiteruntermischter Schleim aus dem exkludierten Rektum
„	20. IX.	0,5	Faeces aus dem Anus praeternaturalis
„	28. X.	2	Eiteruntermischter Schleim aus dem exkludierten Rektum
„	3. XI.	1,75	Eiteruntermischter Schleim aus dem exkludierten Rektum. Reichliche Beimengung eosinophilen Eiters
„	15. XI.	0,25	Dasselbe
Zedeler	30. XI.	0,5	Grauschwarze Suppe
Pilstam	22. XI.	15	Grauer, stinkender Brei. Reichliche jodophile Flora
„	7. XII.	25	Dasselbe

Wie aus der Tabelle hervorgeht, sind die beobachteten Histaminwerte in 6 der 8 Fälle normal. Im Falle Erikson ist der Wert um ein geringes erhöht. Nur im Falle Pilstam ist der Histamingehalt deutlich erhöht.

Möglicherweise könnte man sich denken, daß die beobachteten Unterschiede durch die verschiedene Konsistenz des Stuhls bedingt seien. Bei Bronchialasthma gemachte Erfahrungen (worüber im folgenden näher berichtet wird) haben uns jedoch gelehrt, daß der Histamingehalt des Stuhls von dessen Konsistenz wenig abhängig ist. Es ist ja auch ein wohlbekanntes Faktum, daß schon die Verdünnung konzentrierten Stuhls mit einigen wenigen Teilen Wasser ihn in eine dünne Suppe verwandelt, die von dünnerer Konsistenz ist als selbst hochgradig pathologische Faeces.

Es ist von gewissem Interesse, daß der Stuhl bei dem erhöhte Werte zeigenden Falle sehr reichlich jodophile Bakterien enthielt. Wir haben wiederholt im Zusammenhang mit einer Jodophilie des Stuhls erhöhte Werte beobachtet.

7. Das Faeceshistamin in den übrigen gastrointestinalen Fällen.

Wir haben an einer Reihe gastrointestinaler Fälle Histaminbestimmungen vorgenommen.

Tabelle 6.

Fall	Datum	Diagnose	Histamin γ/ccm	Bemerkungen
Arnell	2. IX.	Achylie. Stat. post. resect. ventriculi	10	
Arnold	23. XI.	Achylie. Pellagra?	1,25	
Söderberg	2. IX.	„	1,5	
K. B. S.	7. X.	Gärungsdyspepsie	10—14	Sehr reichliche Jodophilie
Kvarnström	24. XI.	„	0,12	Mäßige Jodophilie
M. N.	9. XII.	Gärungsbeschwerden	5	Ziemlich reichliche Jodophilie
Linden	6. IX.	Durchfall	12	
Bergmann	5. XI.	Ulcus ventriculi	0	Geringe Jodophilie

Wie aus der Tabelle hervorgeht, kamen in einigen Fällen mäßig erhöhte Werte zur Beobachtung. Vielleicht ist eine gewisse Bedeutung der jodophilen Flora anzunehmen, doch sind die Ergebnisse nicht eindeutig.

Interessant ist, daß eine geringe, aber deutliche Erhöhung der Histaminwerte gelegentlich einer akuten Enteritis sowie nach der Einnahme von Abführmitteln beobachtet wurde, wie es aus der nachstehenden Tabelle hervorgeht.

Tabelle 7.

Fall	Datum	Histamin γ/ccm	Beschaffenheit der Faeces	Bemerkungen
G. M.	16. IX.	1,0	Normal	
„	19. IX.	10,2	Reichliche Jodophilie	Akute Enteritis 18. IX.
„	20. IX.	2,5	Kleine, harte Kügelchen	
„	21. IX.	0,1	Reichliche Jodophilie	
„	27. IX.	2,2	„ „	
J. T.	28. IX.	0,5	Normal	
„	29. IX.	6	Loser Brei	12 Std. nach $1^1/_2$ Eßlöffel Rizinusöl
„	1. X.	3	Normal	

8. Das Faeceshistamin bei Asthma bronchiale.

Zufälligerweise untersuchten wir den Stuhl eines Kranken mit schwerem Bronchialasthma und machten dabei die überraschende Beobachtung, daß das Faeceshistamin deutlich vermehrt war. Der Stuhl des Patienten wurde zwischen dem 27. 8. 1938 und dem 17. 2. 1939 im ganzen 23mal untersucht und wies immer erhöhte Werte auf, außer einige wenige Male gelegentlich gewisser therapeutischer Maßnahmen, worüber im folgenden näher berichtet werden soll. Wir dehnten die Untersuchungen auch auf andere

Asthmapatienten aus und fanden bei 4 von 9 anderen untersuchten Asthmafällen erhöhte Werte.

Die Ergebnisse gehen aus nachstehender Tabelle (Tabelle 8) hervor.

Tabelle 8.

Fall	Datum 1938	Histamin γ/ccm	Bemerkungen	Fall	Datum 1939	Histamin γ/ccm	Bemerkungen
Edman	27. VIII.	20		Edman	3. I.	17	
„	2. IX.	32		„	16. I.	88	Kohle-behandlung
„	14. IX.	80					
„	23. IX.	80		„	17. II.	0	Erneute Fe-Behand-lung
„	27. IX.	256					
„	29. IX.	32					
„	30. IX.	65		Karlsson	27. IX.	32	
„	3. X.	32		„	4. X.	96	
„	4. X.	62—66		„	12. I.	8	
„	10. X.	20		Lindqvist	21. IX.	18—22	
„	21. X.	56		„	23. IX.	0,5	
„	24. X.	87		„	6. X.	1,5	
„	25. X.	40		Both	21. IX.	4	
„	1. XI.	95—108		„	23. IX.	1	
„	6. XI.	6	Fe-Behand-lung	„	6. X.	60	
				„	11. X.	31	
„	9. XI.	5	„	Netzell	6. IX.	1	
„	16. XI.	0,4	„	Rudin	16. IX.	4—8	
„	22. XI.	0	„	Strand	27. IX.	2	
„	30. XI.	0,5	„	Larsson	3. X.	2	
„	7. XII.	95	Fe-Behand-lung	Tärna	2. XI.	2,5	
				„	3. XI.	1,5	
			am 2. XII. abgesetzt	Montalvo	5. I.	2,5	
				„	10. I.	5	

Wie man aus der Tabelle ersieht, handelt es sich um bedeutend erhöhte Werte. In einem Falle wurden 256 γ pro ccm beobachtet, also etwa $^1/_4$ mg Histamin! (Dies zeigt, daß jeder Gedanke daran, daß die Vermehrung nur durch Unterschiede des Wassergehalts bedingt sein könnte, entschieden abzuweisen ist.) Bemerkenswert ist, daß die Erhöhung der Histaminwerte keine konstante Erscheinung darstellt.

Wir haben selbstredend versucht, uns von den Ursachen dieser bisher nicht beobachteten Veränderung im Stuhl der Asthmakranken eine Vorstellung zu machen. Die Stuhlproben, welche bei der Untersuchung erhöhten Histamingehalt aufwiesen, unterschieden sich nicht merkbar von den Proben, die in dieser Hinsicht normal waren. Auffallend oft lagen jedoch Anzeichen einer Gärung vor mit reichlichen Mengen jodophiler Bakterien und Klostridien im Direktpräparat. Bei der routinemäßigen Untersuchung der Fäkalflora wurde nichts Bemerkenswertes gefunden. Eine nähere Analyse der bakteriologischen Verhältnisse in diesen pathologischen Faeces haben wir bisher noch nicht vorgenommen.

Die Frage, ob die Zunahme des Histamins zu einer Histidinvermehrung in der Kost in Beziehung zu setzen ist, können wir nicht sicher beantworten.

Doch war die Kost der erhöhte Histaminmengen aufweisenden Patienten nicht anderer Art als diejenige der anderen. Die Frage muß durch Studien der nach Histidinzufuhr mit der Nahrung im Stuhl auftretenden Histaminmenge untersucht werden. Solche Versuche haben wir noch nicht angestellt.

Wir können ferner auch die Frage nicht sicher beantworten, ob die Histaminmenge zu der Schwere des Asthmas in Beziehung steht. Wir haben in gewissem Grade den Eindruck, daß dies der Fall ist, doch ist es nicht leicht, die Schwere des Asthmazustandes objektiv zu messen.

Wenn auch die Ursache der Histaminzunahme bei diesen Patienten also noch nicht geklärt ist, wollen wir immerhin als unsere Ansicht betonen, daß die Zunahme in diesen Fällen eine so hervorragende Erscheinung darstellt (und so speziell an das Asthma gebunden ist), daß wir sie als ein beachtenswertes Symptom ansehen müssen, das ein weiteres Studium verdient.

9. Versuche, das Faeceshistamin durch Eisenzufuhr zu beeinflussen.

Holtz und Heise haben aus Histidin Histamin hergestellt, indem sie bei Gegenwart von Palladium abwechselnd Sauerstoff und Wasserstoff durch eine Histidinlösung leiteten. Diese oxyreduktionskatalytische Umwandlung wird derjenigen gleichgestellt, die durch den Einfluß von Ascorbinsäure und SH-Körpern auf Histidin erzeugt wird. Durch die Ascorbinsäure und die SH-Gruppen sollen zweierlei Prozesse hervorgerufen werden: die Oxydation der Aminosäure und die Reduktion des Imins. Ein charakteristischer Zug dieses Prozesses ist, daß er bei Gegenwart von Eisen bedeutend gehemmt wird.

Wir meinten nun, es könnte von Interesse sein zu studieren, in welcher Weise die Histaminbildung im Darm durch Eisen beeinflußt wird, und verabreichten deshalb dem in der vorigen Tabelle erwähnten Patienten Edman Ferrum reductum per os in einer Menge von 3 g täglich. Wie aus der Tabelle ersichtlich, führt diese Eisenzufuhr in wenigen Tagen zu einem Sinken des Histamingehalts. Der Kranke, welcher bei 14 Untersuchungen im Laufe von über 2 Monaten beständig erhöhte Werte aufgewiesen hatte, wurde jetzt so gut wie histaminfrei. Wurde das Eisen abgesetzt, so stiegen die Histaminwerte aufs neue, um bei erneuter Zufuhr wieder zu sinken. Die Dialyse des eisenhaltigen Stuhls ergab dieselben Resultate wie die in gewöhnlicher Weise vorgenommene Analyse. Zufuhr von Kohle war wirkungslos. Wir glauben deshalb nicht, daß es sich um einen Adsorptionseffekt handeln kann.

Wir finden diesen Versuch interessant als eine Illustration der Natur der den erhöhten Histamingehalt im Stuhl bedingenden Prozesse. (Vielleicht werfen sie auch ein gewisses Licht auf die biologische Wirkung des Eisens überhaupt.)

10. Das Faeceshistamin in den übrigen Fällen.

Außer den in den obigen Tabellen angeführten Fällen haben wir eine Anzahl von Streufällen aus verschiedenen Krankheitsgruppen untersucht.

Tabelle 9.

Fall	Datum	Diagnose	Histamin in γ/ccm
Westling	22. VIII.	Gonitis acuta	1
Svensson	29. VIII.	Pleuritis exsudativa	5
Zander	29. VIII.	Ischias	4,5
„	2. IX.	„	3
Dalén	21. X.	Neurose	0,12
Källström	27. X.	Polyarthritis chron.	3,5
Svensson	18. XI.	„ „	0
Svenson	22. XI.	Eczema chron.	0,25
Nilsson	10. XII.	Urtikaria	0
„	14. XII.	„	0

Wie aus der Tabelle hervorgeht, liegen diese Histaminwerte innerhalb der von uns normal befundenen Grenzen.

Zusammenfassung.

1. Verfasser geben eine neue Methode zur Bestimmung von Histamin im Stuhl an, die auf der von Barsoum und Gaddum angegebenen fußt.

2. Mit dieser Methode wurden bei gesunden Kontrollpersonen Histaminwerte von 0—5 γ pro ccm Stuhl nachgewiesen.

3. Von Colitis-ulcerosa-Fällen stammender Stuhl wies in bezug auf die Histaminmenge im großen ganzen normale Verhältnisse auf; das gleiche gilt für andere gastrointestinale Fälle und eine Reihe nicht-gastrointestinaler Erkrankungen.

4. Bei Asthma bronchiale wurden in 5 von 10 untersuchten Fällen bedeutend erhöhte Werte gefunden.

5. Die erhöhten Histaminwerte konnten durch perorale Eisenzufuhr beeinflußt werden.

Literatur.

Barsoum, S. G., u. J. H. Gaddum: J. Physiol. (Brit.) **85**, 1 (1935). — Code, C. T.: Ebenda **89**, 257 (1937). — Eppinger, H., u. J. Gutmann: Z. klin. Med. **78**, 399 (1913). — Holtz, P., u. R. Heise: Arch. exper. Path. u. Ther. **187**, 581 (1937). — Koessler, K., u. M. Hanke: J. biol. Chem. (Am.) **59**, 889 (1924). — Loeper, M., D. Mahoudeau u. A. Thomas: Bull. Soc. Chim. biol. (Fr.) **1934**, S. 1385. — Meakins, J., u. Ch. R. Harington: J. Pharmacol. (Am.) **1921**, S. 18. — Mellanby, E.: Quat. J. Med. **9/10**, 165 (1915/17). — Tarras-Wahlberg, R.: Skand. Arch. Physiol. (D)., Suppl.-Bd. 73, 1936. — Åkerblom, E.: Ebenda, Suppl.-Bd. 68, 1934.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik in Bern.
(Direktor: Prof. Dr. W. Frey.)

Über das Verhalten des zirkulierenden Blutes beim Herzkranken.

Von
Bernhard Steinmann.

(Eingegangen am 7. Juni 1939.)

In früheren Untersuchungen haben wir (Steinmann) beim Herzgesunden 5—9 Min. nach Inhalation einer bestimmten Menge Kohlenoxyds den CO-Hb-Gehalt im Kapillarblut des Ohres, des Fingers und der Zehe, sowie im Blut der Vena cubitalis bestimmt, um so einen Einblick in das Verhalten und die Ursachen der Größenschwankungen des zirkulierenden Blutanteils in verschiedenen Körperbezirken zu bekommen. Es ergab sich, daß bei sämtlichen untersuchten Patienten in liegender Position das CO zur Zeit der Entnahme im Körper gleichmäßig verteilt war. Bei sitzender Position der VP. war die Verteilung nur mehr in einem Teil der Fälle gleichmäßig, bei einem anderen Teil bestanden Unterschiede in der CO-Hb-Konzentration des Blutes, und zwar wurde stets der höchste Wert im Ohrblut und der niedrigste im Zehenblut gefunden. Der Fingerwert lag dazwischen und war innerhalb der Fehlergrenze der Methode gleich dem CO-Hb-Wert im Blut der Cubitalvene.

Wir schlossen daraus auf eine ungenügende Anpassungsfähigkeit der peripheren Kreislaufregulationen im Sitzen auf den vermehrten Einfluß der Schwerkraft, wobei es zu einer Stagnation oder wenigstens verminderten Zirkulation des Blutes in der unteren Extremität kommt.

Es lag nun nahe, dieselben Untersuchungen auch auf herzkranke Patienten auszudehnen, um den Einfluß des Herzens in kompensiertem und dekompensiertem Zustand auf die Schwankungen des zirkulierenden Blutes im Liegen und Sitzen festzustellen. Wir haben zu diesem Zwecke bei kompensierten und dekompensierten Patienten im Liegen und meist 2 Tage später im Sitzen den CO-Hb-Gehalt im Kapillarblut des Ohres, des Fingers und der Zehe nach Inhalation einer bestimmten Menge Kohlenoxyd gemessen und meist auch die zirkulierende Blutmenge mit Hilfe des CO-Hb-Wertes im Ohrblut berechnet. Bei 5 Patienten wurde im gleichen Versuch der CO-Hb-Gehalt des Ohres und der Zehe zuerst im Sitzen und anschließend nach einer 4—5 Min. dauernden Liegeperiode wieder bestimmt, um so eine lagebedingte Schwankung in der Größe der zirkulierenden Blutmenge direkt festzustellen.

Methodik.

Die Einatmung des Kohlenoxyds geschah mittels eines kleinen geschlossenen Atmungssystems während 3 Minuten Dauer. Nachher wurde noch 5—8 Minuten lang O_2 nachgeatmet und anschließend die Blutentnahmen im Ohrläppchen, Finger- und Zehenkuppe gemacht zur Bestimmung des Hb-Gehaltes und des CO-Hb-Gehaltes. Vor dem Versuch wurde jeweils schon eine CO-Hb-Bestimmung im Ohrblut durchgeführt und für die Berechnung der zirkulierenden Blutmenge von dem nach Inhalation des CO erhaltenen Werte abgezogen. Die eingeatmete CO-Menge wurde von allen Patienten ohne jegliche subjektiven und objektiven Erscheinungen ertragen. Die Messung des CO-Hb-Gehaltes wurde in der nach dem lichtelektrischen Verfahren von von Muralt und Hartmann gebauten Apparatur durchgeführt. Prinzip, Methode und ihre Fehlergrenzen sind ausführlich von Hartmann beschrieben worden. Was die Anwendung der von uns verwendeten Apparatur[1] und die Fehlergrenzen bei der Bestimmung der zirkulierenden Blutmenge mittels des CO-Verfahrens anbetrifft, verweisen wir auf unsere frühere Arbeit (Steinmann).

Versuchsergebnisse.

In liegender Position, z. T. mit leicht aufgerichtetem Oberkörper (Tabelle 1), zeigen die kompensierten Herzkranken eine gleichmäßige Verteilung des CO im Blut (Fall 1 und 2 und 3). Dagegen weisen die Dekompensierten und diejenigen, die während des Versuches im Übergang von der Dekompensation zur Kompensation waren, in der großen Mehrzahl der Fälle einen deutlich geringeren CO-Hb-Gehalt des Zehenblutes gegenüber demjenigen des Ohrblutes auf. Der Wert des Fingerblutes lag dazwischen, oft eher etwas mehr dem Ohrwert angenähert (Fall 4—10). Eine Ausnahme macht nur Fall 7, der verwunderlicherweise im Liegen eine gleichmäßige Durchmischung des Blutes mit dem CO aufweist. Der Grund ist nicht ersichtlich, da der Patient stark dekompensiert war und alte Oedeme beider Beine aufweist. Von besonderem Interesse ist Fall 10. Der Patient leidet neben einer stark dekompensierten Cardiosklerose auch an einer Lebercirrhose mit recidivierendem hochgradigen Ascites. Wir hatten nun Gelegenheit, die Bestimmung der CO-Verteilung in der Haut vor und nach einer Ascitespunktion von 19 Liter durchzuführen. Während der Versuch vorher ein deutliches Gefälle des CO-Hb-Gehaltes vom Ohr- über das Finger- zum Zehenblut ergab, ist nach der Punktion diese Differenz weitgehend vermindert. Es zeigt sich daraus eine deutliche mechanische Einwirkung der Ascitesflüssigkeit auf die Zirkulation in der unteren Extremität, wahrscheinlich durch Kompression auf die Vena cava inferior und die zuführenden Äste.

Die Versuche in sitzender Position (Tabelle 2), die mit Ausnahme von Fall 10 an denselben Patienten durchgeführt worden sind, zeigen nur ausnahmsweise eine gleichmäßige Durchmischung des Blutes mit dem CO, so bei Fall 2, einer kompensierten essentiellen Hypertension.

---

[1] Wir sind Herrn Prof. v. Muralt, Direktor des Physiol. Institutes in Bern, für die leihweise Überlassung der Apparatur zu Dank verpflichtet.

Tabelle 1. Kohlenoxydverteilung und zirkulierende Blutmenge beim liegenden Herzkranken.

Nr.	Name	Alter	Gewicht kg	Diagnose	CO-Hb (Sätt. %)			Blutmenge (ccm)	
					Ohr	Finger	Zehe	total	pro kg
1	W. R.	41	65	Essent. Hypertonie, kompensiert	15,7	16,0	16,2	6240	96
2	J. H.	64	85	Essent. Hypertonie, kompensiert	16,6	15,5	15,7	6330	74,5
3	T. H.	51	68	Kombiniertes Aortenvitium, Angina pectoris, jetzt kompensiert	13,8	13,8	13,4	6500	95,5
4	G. Be.	47	70	Genuine Schrumpfniere, noch leicht dekompensiert	16,2	15,7	15,1	5500	78,5
5	G. Ba.	72	57	Arteriosklerose, dekompensierte Cardiosklerose	12,9	13,2	10,9	—	—
6	R. S.	51	60	Mitralvitium, Ascites, dekompensiert	16,8	14,1	13,0	5390	90
7	R. D.	63	91	Dekompensierte Cardiosklerose, Bronchiektasen	9,1	9,2	9,1	9460	104
8	F. K.	50	58	Dekompensierte Cardiosklerose, Corovinum	16,8	15,6	13,8	5820	100
9	A. H.	66	87	Essent. Hypertonie, dekompensiert	11,7	—	9,1	8700	100
10	J. B.	54		Stark dekompensierte Cardiosklerose, Lebercirrhose, Ascites, Oedeme					
			121	a) vor Ascitespunktion	11,7	10,7	2,9	—	—
			102	b) nach „ (19 Liter)	13,5	11,8	12,0	—	—

Tabelle 2. Kohlenoxydverteilung und zirkulierende Blutmenge beim sitzenden Herzkranken. (Alter, Gewicht und Diagnose siehe Tabelle 1.)

Nr.	CO-Hb (Sätt. %)			Blutmenge (ccm)	
	Ohr	Finger	Zehe	total	pro kg
1	20,2	19,6	16,3	4295	66
2	15,4	15,7	15,7	6400	75
3	16,4	15,5	15,3	5428	80
4	16,6	16,2	15,0	5535	78,4
5	12,0	12,7	8,7	—	—
6	12,8	13,6	10,8	—	—
7	12,3	10,7	8,1	8070	89
8	11,1	11,4	9,0	—	—
9	12,9	—	12,1	—	—

Merkwürdigerweise fand sich bei Fall 9 im Sitzen fast ein völliger Ausgleich der CO-Hb-Werte im Ohr und der Zehe, dagegen bestand im Liegen eine deutliche Differenz. Da der Patient neben einer Hypertension eine große harte, vermutlich cirrhotische Leber aufwies, scheint es uns am wahrscheinlichsten, daß die Leber in liegender Position einen stärkeren Druck auf die venösen Gefäße ausübte als im Sitzen. Meist bestand eine deutliche Differenz des CO-Hb-Gehaltes zwischen Ohr und Zehe. Der Fingerwert lag entweder dazwischen oder in gleicher Höhe wie der Ohrwert (innerhalb der Fehlergrenze der Methodik).

Tabelle 3. Kohlenoxydverteilung und zirkulierende Blutmenge, berechnet aus dem CO-Hb-Wert des Ohrblutes, beim Übergang aus der sitzenden in die liegende Position.

Nr.	Name	Alter	Gewicht kg	Diagnose	Position	CO-Hb (Sätt. %)		Blutmenge (ccm)	
						Ohr	Zehe	total	pro kg
11	F. G.	64	51	Arteriosklerose kompensiert	a) sitzend	16,2	16,2	5000	100
					b) liegend	16,3	16,6	5000	100
12	A. G.	31	67	Sprue, Hypocalcämie, Ödeme	a) sitzend	21,2	16,8	5580	82
					b) liegend	19,6	19,0	6150	92
13	F. W.	14	—	Vitium cordis Lungenstauung	a) sitzend	11,5	8,5	—	—
					b) liegend	14	9,9	—	—
14	A. K.	15	66	Vitium cordis kompensiert	a) sitzend	16,5	15,3	4030	61
					b) liegend	14,8	15,0	4610	76,5
15	A. S.	65	57,5	Vitium cordis Lungenstauung	a) sitzend	15,4	13,5	4700	81,5
					b) liegend	14,7	14,7	5020	87

Bei 5 Patienten (Tabelle 3) haben wir im gleichen Versuch zuerst sitzend und 4—5 Min. später liegend den CO-Hb-Gehalt in der Zehe und im Ohr bestimmt. Ist dieser schon im Sitzen ausgeglichen (Fall 1), so ändert sich im Liegen nichts mehr, besteht dagegen eine Differenz (Fall 2—5), so gleicht sich diese im Liegen mehr oder weniger vollkommen aus. Bestimmt man nun die zirkulierende Blutmenge unter Zugrundelegung des CO-Hb-Gehaltes des Ohres in der Annahme, daß dort die Garantie am größten ist, daß das Blut völlig in der allgemeinen Zirkulation sich befindet, so erhält man dementsprechend in Fall 1 denselben Wert für die zirkulierende Blutmenge im Sitzen und Liegen, dagegen in Fall 2, 3 und 5 im Sitzen einen kleineren Wert als im Liegen. Die kleinere zirkulierende Blutmenge im Sitzen beruht dabei auf einer verminderten Zirkulation oder sogar Stagnation von Blut in der Haut der unteren und zum Teil auch oberen Extremität.

Ähnlich verhält es sich bei Berechnung der zirkulierenden Blutmenge aus dem CO-Hb-Gehalt des Ohres in Tabelle 1 und 2, wie wir sie in der Großzahl der Fälle durchgeführt haben. Wo der Ohrwert im Sitzen und

Liegen derselbe ist, sei es nun, daß das CO in beiden Positionen gleichmäßig verteilt ist oder dasselbe Gefälle zeigt, erhält man auch dieselbe zirkulierende Blutmenge; wenn sich dagegen die im Sitzen gefundene Differenz im Liegen ausgleicht, so wird der CO-Hb-Gehalt des Ohrblutes kleiner und damit der daraus errechnete Wert für die zirkulierende Blutmenge größer.

Bei den dekompensierten Patienten fanden wir meist eine deutliche Vermehrung der zirkulierenden Blutmenge, bei den kompensierten bewegte sich der Wert in der Grenze der Norm. Die absoluten Werte der zirkulierenden Blutmenge stimmen mit denjenigen, die mit der Farbstoffmethode gewonnen wurden (Wollheim u. a.), überein. Dies rührt wohl größtenteils davon her, daß wir stets vom CO-Hb-Gehalt des Ohres nach Atmung des CO-Gases den vorher bestimmten „Leerwert" subtrahierten, ansonst auch wir stets deutlich kleinere Werte für die zirkulierende Blutmenge berechnet hätten.

Diskussion.

Aus unseren Untersuchungen geht hervor, daß in liegender Stellung der Herzkranke oft, namentlich bei Dekompensation, ein Gefälle des CO-Hb-Gehaltes vom Ohrblut zum Zehenblut aufweist. Beim liegenden Herzgesunden war dagegen stets eine gleichmäßige Durchmischung des Blutes in den verschiedenen Hautbezirken festgestellt worden (B. Steinmann).

Man kann nun bei Auftreten eines geringeren CO-Hb-Gehaltes im Zehenblut und teilweise in geringerem Grade auch im Fingerblut gegenüber dem Ohrblut sicher sagen, daß in der Haut der unteren Extremität und z. T. auch in der oberen Extremität die Zirkulation gegenüber dem allgemeinen Kreislauf eine Veränderung im Sinne einer Verlangsamung oder Stagnation erfahren hat. Es stellt sich nun die Frage, durch was für einen Mechanismus eine solche Veränderung der Zirkulation zustande kommt, bei der eine gleichmäßige Verteilung des eingeführten Kohlenoxyds nicht mehr möglich ist. Rein hat drei Möglichkeiten der Blutdeponierung erwähnt:

1. Die Speicherung von Blut in einem Hohlorgan (echte Depots),
2. die Speicherung durch Kapazitätsänderung des Strombettes im Nebenschluß und
3. die Speicherung von Blut durch Kapazitätsänderung des Strombettes im Hauptschluß.

Wenn Rein diese drei Mechanismen der Blutspeicherung auch für physiologische Depots angegeben hat, so lassen sie sich im Prinzip doch auch auf Blutablagerungen unter nicht physiologischen Verhältnissen übertragen. Wir vermeiden in unserem Falle den Ausdruck Speicher (Depots), weil für uns dieser Begriff der Ausdruck eines physiologischen Regulationsmechanismus im Kreislaufgeschehen ist und wir es hier mit pathologi-

schen Zuständen zu tun haben. Man kann dann die drei Möglichkeiten folgendermaßen auf unsere Verhältnisse übertragen:

1. Stagnation von Blut im Nebenschluß (z. B. in den Endkapillaren der Haut);

2. Ablagerung von Blut durch Kapazitätsänderung des Strombettes im Nebenschluß;

3. starke Verlangsamung der Zirkulation im Hauptschluß, eventuell mit Kapazitätsänderung des Strombettes.

Da ja das Zehenblut nicht CO-frei ist, sondern nur einen von Fall zu Fall verschieden geringeren CO-Hb-Gehalt aufweist als das Ohrblut — im Liegen beträgt der Unterschied meist 10—25 % —, so spricht das dafür, daß das Blut der unteren Extremität während der Durchmischungszeit (5—8 Min.) nach der CO-Einatmung soweit in der Zirkulation sich befindet, daß es sich bis auf 75—90 % des CO-Hb-Gehaltes des Ohres mit dem CO vermischt. Es bestehen zwei Möglichkeiten, wie dieses Verhalten zustande kommen kann. Entweder befindet sich die gesamte in der unteren Extremität zirkulierende Blutmenge in langsamerer Zirkulation als diejenige im übrigen Körper, oder ein Teil befindet sich in normaler oder relativ nur wenig verlangsamter Zirkulationsgeschwindigkeit, der andere Teil aber ist im Nebenschluß in stark verlangsamter Zirkulation oder stagniert sogar.

Die erste Möglichkeit (Typ 3) allein ist kaum wahrscheinlich. Denn wenn auch 5—8 Min. Durchmischungszeit noch nicht genügen würden, um bei gleichmäßig verlangsamter Zirkulationsgeschwindigkeit in der unteren Extremität eine gleichmäßige Verteilung des CO in der ganzen Haut (und übrigen Organen) herzustellen, so müßte sich doch mindestens nach einer Stunde das Gleichgewicht eingestellt haben. Wir konnten nun aber beim sitzenden Patienten zeigen, daß in Kontrollen nach je 20 Min. bis eine Stunde nach der CO-Einatmung die Differenz des CO-Hb-Gehaltes zwischen Ohr- und Zehenblut noch immer im selben Grade vorhanden war. Es ist daher anzunehmen, daß ein gewisser Teil des Blutes der unteren Extremität entweder im Nebenschluß sehr langsam zirkuliert oder sogar stagniert. Für eine Stagnation sprechen die Untersuchungen von Parrisius und Wintterlin, die im Stehen mit Hilfe der Kapillarmikroskopie eine starke Zunahme der Stasen in den Endkapillaren beobachten konnten. Das zur Bestimmung des CO-Hb-Gehaltes entnommene Blut setzt sich dann vermutlich aus einem Teil mit höherem CO-Hb-Gehalt und einem Teil mit niedrigem CO-Hb-Gehalt aus dem Nebenschluß zusammen. Wenn man auch diese Differenzierung nicht sicher vornehmen kann, so haben wir doch in mehreren Fällen beobachtet, daß der erste Blutstropfen des Zehenblutes einen geringeren CO-Hb-Gehalt aufwies als der zweite, was für eine ungleichmäßige Durchmischung des Hautblutes in der Zehe mit dem CO und somit für das Vorhandensein von verschieden rasch

zirkulierendem, eventuell sogar stagnierendem Blut spricht. Dabei ist auch die Zirkulationsgeschwindigkeit im Hauptschluß herabgesetzt. Dies konnte beim Herzkranken von Eb. Koch, Stanojevic, M. F. Bock, Matthes und Malikiosis u. a., beim Sitzen und Stehen besonders von Matthes und Malikiosis nachgewiesen werden. Wahrscheinlich ist das sogar die notwendige Bedingung dafür, daß es im Nebenschluß zu einer noch langsameren Zirkulation oder Stagnation kommen kann.

Es ergibt sich aus den obigen Ausführungen, daß beim liegenden Herzkranken mit ungleichmäßiger Verteilung des CO im Blut in der unteren und in schwächerem Grade oft auch in der oberen Extremität — analog dem Herzgesunden und Herzkranken in aufrechter Position — neben einer allgemeinen Verlangsamung der Zirkulationsgeschwindigkeit im Hauptschluß noch eine bedeutend stärkere Verlangsamung eines wahrscheinlich nur kleinen Teils des Blutes oder sogar eine Stase in gewissen Hautgefäßen im Nebenschluß bestehen muß.

Wir haben in einer früheren Arbeit die bei vielen Herzgesunden in sitzender Stellung nachgewiesene Herabsetzung der Zirkulation in der unteren Extremität auf einen dem vermehrten Einfluß der Schwerkraft gegenüber ungenügenden Vasomotorentonus bezogen. Beim liegenden Herzkranken fällt diese Ursache weg. Der Grund der Ausschaltung eines Teiles des Blutes aus der allgemeinen Zirkulation liegt hier in einer Schwäche des Herzens selbst. Von Bedeutung ist hier vermutlich der erhöhte Venendruck. Da durch diese Zirkulationsstörungen auch der Stoffaustausch beeinträchtigt wird, ist es wohl möglich, daß sekundär als Folge davon auch der Vasomotorentonus ungenügend wird. Eine weitere Hemmung der Zirkulation in der unteren Extremität kann auf einer durch Oedeme hervorgerufenen Kompression der Gefäße beruhen. Allein sind die Oedeme sicher nicht maßgebend beteiligt, da auch bei oedemfreien Patienten zum Teil ein niedriger CO-Hb-Gehalt in der Zehe gefunden wurde.

Im Sitzen unterscheidet sich der Herzkranke nicht so wesentlich vom Herzgesunden wie im Liegen. Die gleichmäßige Durchmischung des Blutes mit dem CO, d. h. eine gegenüber dem übrigen Körper nicht verlangsamte Zirkulation in der unteren Extremität ist allerdings hier die Ausnahme. Es tritt zum kardialen noch der periphere Faktor, der ungenügende Vasomotorentonus bei aufrechter Körperhaltung. Der in der unteren Extremität versackte Blutanteil ist größer. Dies drückt sich in einer Zunahme der Differenz des CO-Hb-Gehaltes zwischen Ohr- und Zehenblut aus. Auf die Bedeutung derartiger Änderungen der Blutzirkulation hat kürzlich H. Hungerland hingewiesen. Nach Injektion von Insulin in der Knöchelgegend bei herzkranken Kindern fällt der in den folgenden Stunden kontrollierte Blutzuckerwert bei liegender Stellung viel tiefer und rascher ab als bei sitzender Stellung des Patienten. Die Resorptionsbedingungen sind demnach in der unteren Extremität beim

sitzenden Patienten völlig anders als beim liegenden. Es ist nicht ausgeschlossen, daß diese kreislaufmechanisch bedingten Einflüsse auf die Insulinresorption (und auch auf die Resorption anderer Stoffe) praktisch eine Rolle spielen können, die man bis dahin zu wenig beachtet hat.

Die zirkulierende Blutmenge beim dekompensierten Herzkranken ist schon unter Grundumsatzbedingungen — die basale Blutmenge, wie sie von Wollheim bezeichnet worden ist — meist erhöht (Plesch, Eppinger, Schürmeyer, Ewig und Hinsberg, Plusdekompensation von Wollheim). Diese Befunde konnten an Leichenmaterial von C. Böss bestätigt werden. In einer Minderzahl der Fälle, besonders wenn die Dekompensation im Anschluß an eine Infektion auftrat, konnte Wollheim eine verminderte zirkulierende Blutmenge feststellen (Minusdekompensation). Auch dieses Verhalten konnte von Böss autoptisch bestätigt werden. Wir selbst fanden meist eine vermehrte, nie aber eine verminderte zirkulierende Blutmenge. Wir möchten aber das Vorkommen einer Minuskompensation nicht in Abrede stellen, da wir nur eine beschränkte Anzahl von Patienten untersucht haben.

Beim dekompensierten Herzkranken muß auch die Gesamtblutmenge vermehrt sein. Denn man findet schon unter Grundumsatzbedingungen neben einer Vermehrung der zirkulierenden Blutmenge Anhaltspunkte dafür, daß in der Haut der unteren (z. T. auch der oberen) Extremität ein gewisses Blutvolumen aus der allgemeinen Zirkulation ausgeschaltet ist und jedenfalls nicht zu der mit der CO-Methode bestimmten zirkulierenden Blutmenge zu zählen ist. Beim Gesunden und auch meist beim Herzkompensierten läßt sich dieses Verhalten nie feststellen, trotzdem die zirkulierende Blutmenge nicht erhöht ist.

Es kann der Einwand gemacht werden, daß man die CO-Methode zur Bestimmung der zirkulierenden Blutmenge beim Herzkranken mit Zeichen einer Lungenstauung aus methodischen Gründen nicht anwenden darf (vgl. Siebeck). Wir können dem entgegenhalten, daß unsere absoluten Werte für die zirkulierende Blutmenge in derselben Größenordnung wie die mit den Farbstoffmethoden bestimmten liegen. Außerdem wird gerade die CO-Aufnahme im Gegensatz zu andern gasanalytischen Verfahren in der Lunge wegen der überaus starken Affinität des CO zum Hb auch bei Lungenstauung nicht wesentlich beeinflußt. Ferner ist zu sagen, daß auch bei unvollkommener Aufnahme des CO in der Lunge der Grad der Durchmischung des Blutes in den einzelnen Hautbezirken nicht beeinflußt wird. Wir haben in den Fällen, wo wir infolge einer Undichtigkeit des Mundstückes nicht für eine vollständige Aufnahme des CO in der Lunge bürgen konnten, die zirkulierende Blutmenge nicht ausgerechnet.

Ist beim sitzenden Herzkranken das Gefälle zwischen Ohr- und Zehenwert des CO-Hb-Gehaltes größer als im Liegen, so muß auch der wie immer mit Hilfe des CO-Hb-Gehaltes des Ohrblutes errechnete Wert für die zirkulierende Blutmenge im Sitzen kleiner sein, da ein größeres Blutquantum in der unteren Extremität der allgemeinen Zirkulation entzogen ist als im Liegen. Beim Lagewechsel vom Sitzen zum Liegen tritt der in

den Beinen versackte Anteil des Blutes in kurzer Zeit, je nach dem Zustand des Herzens mehr oder weniger vollkommen, wieder in die allgemeine Zirkulation, wobei der CO-Hb-Gehalt des Ohres ab- und der der Zehe zunimmt und die aus dem Ohrwert berechnete zirkulierende Blutmenge größer wird.

Wir möchten zum Schluß betonen, daß der Begriff der zirkulierenden Blutmenge ursprünglich unter Annahme verschiedener Voraussetzungen aufgestellt worden ist, deren Bestehen vielfach, besonders unter pathologischen Bedingungen, nicht gewährleistet ist. Schon Eppinger und Brednow haben betont, daß man nicht von einer zirkulierenden und nicht zirkulierenden, sondern nur von einer schnell und langsam zirkulierenden Blutmenge sprechen kann. Die Verhältnisse sind aber noch komplizierter. Aus der Literatur und besonders aus unseren Befunden geht hervor, daß je nach dem Körperbezirk und der Körperhaltung die Zirkulationsgeschwindigkeit des Blutes vermutlich stark variieren kann, und so auch extreme Verlangsamungen und Stasen, meist im Nebenschluß, vorkommen können. Eine weitere Fehlerquelle ist die Verschiedenheit des Hämoglobin-Plasmaverhältnisses in verschiedenen Gefäßregionen. Wir konnten beim Herzgesunden eine ziemlich große Konstanz dieses Verhältnisses feststellen, dagegen zeigten die untersuchten Herzkranken oft ein ungleichmäßiges Verhalten, am häufigsten eine relative Vermehrung des Hämoglobins in der unteren Extremität. Brednow hat besonders auf diese Fehlermöglichkeit hingewiesen. Trotz dieser Einschränkungen in der Deutung der mit Hilfe der üblichen Methoden zur Bestimmung der zirkulierenden Blutmenge erhaltenen Resultate können doch, wenn die Untersuchungen unter stets denselben Bedingungen (Grundumsatzbedingungen!) durchgeführt werden, verwertbare Anhaltspunkte über die Größe des zirkulierenden Blutes gewonnen werden. Wie auch unsere Untersuchungen zeigen, sind die Verhältnisse beim Herzkranken komplizierter als beim Herzgesunden. Wichtig ist, daß man bei Anwendung der Fremdstoffmethoden sich der Schwierigkeiten in der Deutung bewußt ist und wenn möglich, die Verteilung der eingeführten Substanz im Blut an verschiedenen Körperstellen prüft. Dies ist aber bis jetzt nur mit der Kohlenoxydmethode möglich.

Zusammenfassung.

Es wird bei einer Anzahl kompensierter und dekompensierter Herzpatienten nach Inhalation einer kleinen Menge Kohlenoxyds der CO-Hb-Gehalt des Ohr-, Finger- und Zehenblutes bestimmt und aus dem Ohrwert die zirkulierende Blutmenge berechnet.

Im Gegensatz zum liegenden Herzgesunden besteht meist beim liegenden, besonders beim dekompensierten Herzkranken, ein Gefälle der CO-Hb-Konzentration vom Ohr zum Zehenblut, das auf eine stark

verlangsamte Zirkulationsgeschwindigkeit oder Stagnation des Blutes in den Hautkapillaren der unteren Extremität zurückgeführt wird als Folge einer kardialen Insuffizienz.

Beim Sitzen wird das Gefälle infolge des ungenügenden Vasomotorentonus oft noch verstärkt.

Die zirkulierende Blutmenge ist, trotzdem eine teilweise Ausschaltung von Blut in der unteren Extremität festgestellt wird, beim liegenden Herzkranken meist vermehrt, was für eine Vermehrung auch der gesamten Blutmenge spricht. Beim Sitzen ist die zirkulierende Blutmenge meist kleiner als im Liegen.

Es wird darauf hingewiesen, daß der Begriff der zirkulierenden Blutmenge in der ursprünglichen Definition nicht existiert und nur mit gewissen Vorbehalten anzuwenden ist.

Literatur.

Bock, F. M.: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **55**, 148 (1938). — Brednow, W.: Zbl. inn. Med. **53**, 984 (1932). — Böss, C.: Virchows Arch. **297**, 305 (1937). — Eppinger, H.: Wien. klin. Wschr. **1934**, I, 10 u. 47; Klin. Wschr. **1933**, I, 5. — Hartmann, H.: Ergebn. Physiol. usw. **39**, 413 (1937). — Hungerland, H.: Klin. Wschr. **1939**, I, 646. — Koch, Eb.: Dtsch. Arch. klin. Med. **140**, 39 (1922). — Matthes, K., u. X. Malikiosis: Ebenda **179**, 500 (1936). — Parrisius, W., u. Wintterlin: Ebenda **141**, 243 (1932). — Rein, H.: Klin. Wschr. **1933**, I, 1. — Siebeck, R.: Ebenda **1929**, II, 2121. — Stanojevic, L.: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **55**, 155 (1938). — Steinmann, B.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 237 (1938); Klin. Wschr. **1938**, II, 1641. — Wollheim, E.: Z. Klin. Med. **116**, 269 (1931).

Aus dem Pharmakologischen Institut (Direktor: Professor S. Janssen) und der Frauenklinik (Direktor: Professor F. Siegert) der Universität Freiburg i. Br.

Künstliche Brunststoffe.

Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung von 4,4'-Dioxy-α, β-Diäthylstilben, Oestron und Oestradiol.

Von

Paul Grumbrecht und **Arnold Loeser.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 11. Juni 1939.)

I. Einleitung.

Die Bemühungen, körpereigene Brunststoffe synthetisch herzustellen, haben zu der Erkenntnis geführt, daß die oestrogene Wirksamkeit nicht an ein bestimmtes Ringsystem geknüpft ist, wie es beispielsweise im eigentlichen Follikelhormon vorliegt, sondern einer ganzen Reihe von chemisch verschiedenen Substanzen zukommt. Unter diesen nehmen die Derivate des Stilbens ($C_6H_5—CH = CH—C_6H_5$) insofern eine Sonderstellung ein, als ihre Wirkungen hinsichtlich der Geschlechtssphäre qualitativ und quantitativ weitgehend mit denjenigen von körpereigenen Brunststoffen übereinstimmen[1]. Dies gilt vor allem für das 4, 4'-Dioxy-α, β-Diäthylstilben. Hinsichtlich der Nebenwirkungen ergeben sich jedoch grundsätzliche Unterschiede. Während selbst nach mehrmonatiger enteraler oder parenteraler Zufuhr hoher Dosen von körpereigenen oestrogenen Substanzen pathologische Veränderungen parenchymatöser Organe bisher niemals beobachtet werden konnten[2], ließen sich bei Ratten nach Injektion großer Mengen von Dioxydiäthylstilben Schädigungen in der Leber nachweisen (Loeser[3]). Diese Schädigungen äußern sich als degenerative Veränderungen und bestehen in feintropfiger Verfettung der Leberzellen und im Auftreten von Leberzellnekrosen. Der Befund der Leberschädigung nach parenteraler

---

[1] Dodds, Goldberg, Lawson u. Robinson: Nature (London) **141**, 247 (1938); **142**, 211 (1938); Dodds, Lawson, Noble: Lancet **1938**, S. 1389; Emmens: J. Physiol. (Brit.) **94**, 23 (1939); Kreitmair u. Sieckmann: Klin. Wschr. **1939**, S. 156; Buschbeck u. Hausknecht: Ebenda **1939**, S. 160; Loeser: Ebenda **1939**, S. 346; Exper. Med. **105**, 430 (1939); Grab: Münch. med. Wschr. **1939**, S. 436; Parkes, Dodds, Noble: Brit. med. J. **1938**, S. 557; Hachmeister: Vortrag Gynäkologentagung, Göttingen, Mai 1939. Weitere Literatur siehe Varangot: Presse méd. **1939**, S. 725/726; Nordmeyer: Vortrag Gynäkologentagung Göttingen, Mai 1939; Tüscher: Klin. Wschr. **1939**, S. 808. — [2] Grumbrecht: Habilitationsschrift, im Druck. — [3] Loeser: l. c.

Zufuhr von Dioxydiäthylstilben ist inzwischen von anderer Seite bestätigt worden [4]).

Auch beim Menschen liegen bereits Beobachtungen über toxische Wirkungen von künstlichen Brunststoffen vor [5]. So gibt Varangot [6] in seinen Untersuchungen über die oestrogene Wirksamkeit und Giftigkeit des Dioxydiäthylstilbens an, daß bei der Frau schon die therapeutischen Dosen häufig toxisch wirken und daher zu Nebenerscheinungen führen können. Diese äußern sich als Früh- und Spätschäden und bestehen in Übelkeit, Magenschmerzen, Nausea, Erbrechen und Schwindelgefühl. Als Entstehungsursache für die Nebenerscheinungen nimmt Varangot neben einer Giftwirkung auf die Magenschleimhaut eine Schädigung der Leber an. Die Spätschäden treten im allgemeinen erst nach Ablauf der sechsten Behandlungswoche auf. Diese Tatsache ist deshalb besonders hervorzuheben, weil sich toxische Veränderungen in der Leber auch im Experiment erst nach mehrwöchiger Behandlung einstellen.

Wegen der praktischen Bedeutung, die den künstlichen Brunststoffen als Ersatzmittel für Follikelhormon zukommt, wird in der vorliegenden Arbeit untersucht, ob die bisher nur nach parenteraler Applikation von Dioxydiäthylstilben beobachteten toxischen Veränderungen innerer Organe bei Ratten auch nach peroraler Verabreichung nachzuweisen sind. Entscheidend für diese Fragestellung war die Tatsache, daß die künstlichen Brunststoffe, zum Unterschied von Follikelhormon, per os gegeben, eine sichere Wirksamkeit entfalten und somit bei dieser Applikationsart den körpereigenen Brunststoffen überlegen sind. Um die Wirkungen von Dioxydiäthylstilben und körpereigenen oestrogenen Substanzen miteinander vergleichen zu können, haben wir bei normalen Ratten den Einfluß gleicher Gewichtsmengen Oestron, Oestradiol und Dioxydiäthylstilben auf den Allgemeinzustand, auf die Geschlechtsorgane, die innersekretorischen Drüsen und insbesondere auf die Leber untersucht.

II. Methodik.

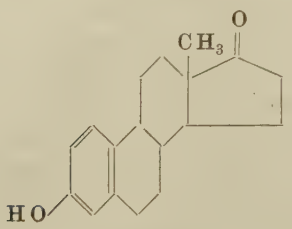
Die Versuchstiere (weibliche Ratten, Futter: Brot, Milch, Fleisch, Gemüse) waren in drei Gruppen eingeteilt. Die erste Gruppe (15 Ratten) erhielt täglich 1 mg Oestron, die zweite Gruppe (15 Ratten) täglich 1 mg Oestradiol und die dritte Gruppe (15 Ratten) täglich 1 mg Dioxydiäthylstilben. Alle Substanzen waren in Sesamöl gelöst und wurden den Tieren mit einer Pipette verabreicht. Infolge der unterschiedlichen Löslichkeit der einzelnen Verbindungen war die Menge des Lösungsmittels verschieden. Sie betrug bei Oestron pro mg Substanz 0,3 ccm, bei Oestradiol pro mg 0,3 ccm und bei Dioxydiäthylstilben pro mg 0,2 ccm. (Das Lösungsmittel selbst verursachte, wie vorauszusehen war, keine pathologischen Organveränderungen.) Nach Ablauf der Versuchszeit — 12, 18 und 45 Tage —

[4] Arnold u. Hamperl: Briefliche Mitteilung (Veränderungen in der Leber von Hunden); Grab: Münch. med. Wschr. **1939**, S. 440 (Ratten). — [5] Literatur siehe Varangot: Presse méd. **1939**, S. 725/726. — [6] Varangot: l. c.

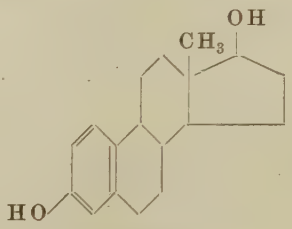
wurden die Tiere getötet und Uterus, Vagina, Brustdrüse, Leber, Milz, Darm, Lymphknoten, Niere sowie die innersekretorischen Organe histologisch untersucht.

Alle Tiere wurden mehrmals in der Woche gewogen. Außerdem haben wir bei einem Teil der Tiere den Bilirubingehalt im Blute (Hijmans van den Bergh) und den Blutzucker (Hagedorn-Jensen) bestimmt.

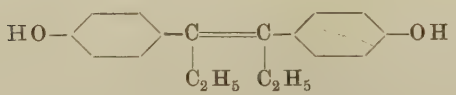
Die Versuche wurden in den Monaten Februar bis Juni ausgeführt.



Oestron,



Oestradiol,



4, 4′-Dioxy-α, β-Diäthylstilben.

III. Allgemeinwirkungen nach peroraler Zufuhr von Oestron, Oestradiol und 4, 4′-Dioxy-α, β-Diäthylstilben.

Über das Verhalten des Körpergewichtes von Ratten nach Einwirkung großer Mengen Oestron, Oestradiol und Dioxydiäthylstilben gibt Abb. 1 Aufschluß. Sie enthält eine Gegenüberstellung der Gewichte von normalen und behandelten Tieren. Aus ihr geht hervor, daß die normalen Tiere eine stärkere und schnellere Gewichtszunahme aufweisen als die Versuchstiere. Auch bei diesen nimmt das Gewicht zu, jedoch setzt sich der Anstieg nicht wie bei den Kontrollen gleichmäßig fort. Einige Tiere zeigen sogar einen Gewichtsstillstand. Vergleicht man die Gewichtskurven der einzelnen Versuchsgruppen miteinander, dann ergibt sich, daß die Wirkung der untersuchten oestrogenen Substanzen auf das Körpergewicht in der Reihenfolge Oestradiol, Dioxydiäthylstilben, Oestron zunimmt.

Der Allgemeinzustand der Tiere zeigte, abgesehen von den ersten Tagen der Behandlung (verminderte Freßlust, Apathie), keine Besonderheiten. Blutungen [7], wie sie bei Ratten nach subcutaner Injektion von großen Mengen Dioxydiäthylstilben häufig anzutreffen sind, fehlten.

[7] Loeser: Klin. Wschr. **1939**, S. 346.

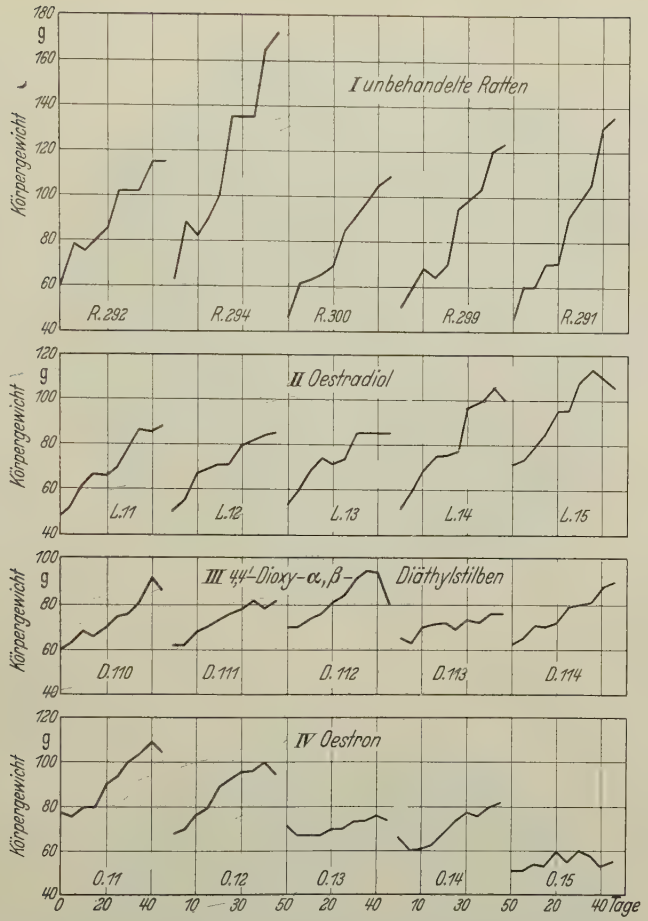


Abb. 1. Das Verhalten des Körpergewichtes von normalen und von mit Oestradiol, 4,4'-Dioxy-α, β-Diäthylstilben und Oestron behandelten Ratten (pro Tier und Tag 1 mg per os). Abszisse: Zeit in Tagen. Ordinate: Körpergewicht in g.

IV. Organveränderungen nach peroraler Zufuhr von Oestron, Oestradiol und 4, 4'-Dioxy-α, β-Diäthylstilben.

1. Leber.

Die histologische Untersuchung der Leber von Ratten, die mit Oestron, Oestradiol oder Dioxydiäthylstilben behandelt waren, ergab, daß nur nach Zufuhr von Dioxydiäthylstilben Schädigungen auftraten. Diese Schädigungen äußern sich als degenerative Veränderungen und bestehen in feintropfiger Verfettung der Leberzellen und im Auftreten von Leberzellnekrosen (Abb. 2 und 3). Die stärksten Schädigungen fanden wir bei den Tieren D 110 und D 112. Schon makroskopisch zeigte hier die Leber eine fleckförmige gelbe Verfärbung. Histologisch waren neben frischen auch

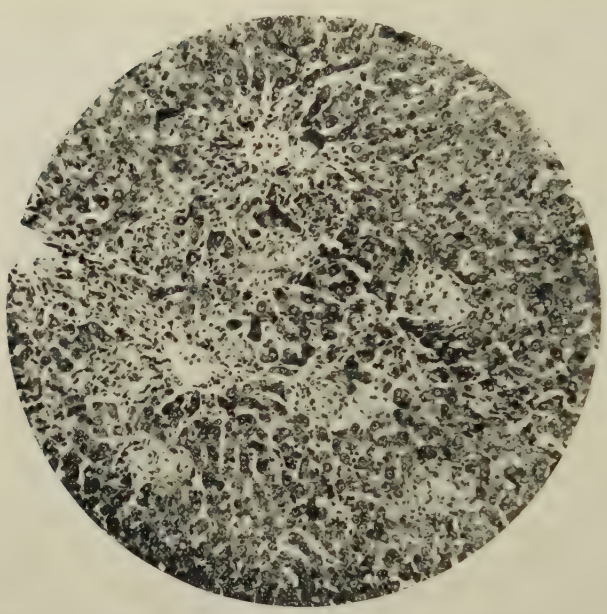


Abb. 2. Rattenleber (Tier D 112) nach 44tägiger peroraler Zufuhr von täglich 1 mg Dioxydiäthylstilben. Man beachte die herdförmigen frischen und älteren Nekrosen. Übersichtsbild. Färbung: v. Gieson. (Vergrößerung: 40fach.)

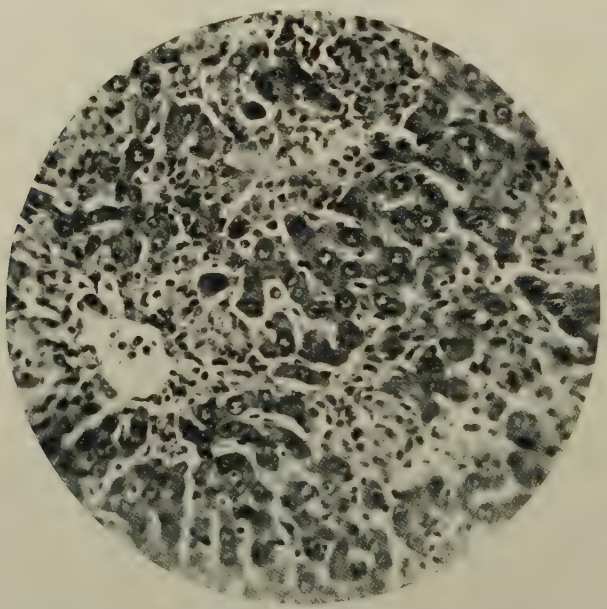


Abb. 3. Dieselbe Aufnahme wie Abb. 2 bei starker Vergrößerung (200fach). Links unten eine Zentralvene. Die gleichmäßige Anordnung der Leberzellen ist durch die Nekrosen unterbrochen. Färbung: v. Gieson.

ältere, bereits in Organisation begriffene Nekrosen nachzuweisen. Nur bei Ratte D 114 war die Leber normal.

Besonders hervorgehoben sei der wichtige Befund, daß bei Ratten nach peroraler Zufuhr von täglich 1 mg Dioxydiäthylstilben-Diproprionat (Versuchsdauer 54 Tage, s. Tabelle 1) ebenfalls Schädigungen in der Leber nachgewiesen werden konnten. Daraus folgt, daß zwischen freiem und verestertem Dioxydiäthylstilben hinsichtlich der toxischen Wirkung keine grundsätzlichen Unterschiede bestehen. Vergleicht man jedoch den Grad der pathologischen Auswirkungen dieser beiden Substanzen, dann zeigt sich, daß die degenerativen Veränderungen der Leber nach 44tägiger peroraler Zufuhr von täglich 1 mg unverestertem Dioxydiäthylstilben stärker sind, als die nach 54tägiger peroraler Verabreichung von täglich 1 mg Propionsäureester. Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, zeigte das histologische Bild bei diesen Tieren Nekrosen einzelner Leberzellen. Vermutlich handelt es sich hierbei um die ersten Anfänge einer Schädigung durch das bei der Spaltung des Esters im Organismus frei werdende Dioxydiäthylstilben. Da diese Spaltung allmählich erfolgt, wird verständlich, daß die Schädigung nicht die Stärke erreicht, welche durch die direkte Verabreichung des unveresterten Dioxydiäthylstilbens

Tabelle 1.

Der Einfluß von Dioxydiäthylstilben-Diproprionat auf die Struktur der Leber von normalen Ratten (pro die 1 mg in Sesamöl gelöst per os).

Tier Nr.	Körpergewicht in g zu Beginn des Versuchs	Körpergewicht in g am Ende des Versuchs	Histologischer Leberbefund	Gewicht der innersekretorischen Organe in mg Ovarium	Schilddrüse	Nebennieren	Hypophyse
			Gruppe I. Versuchsdauer: 25 Tage.				
C 1	55	74		20	8	45	14
C 2	59	90		20	13	43	11
C 3	49	70	ohne Besonderheiten	16	9	52	7
C 4	60	87		21	16	47	10
C 5	56	88		30	16	55	9
			Mittelwert:	21,4	12,4	48,4	10,2
			Gruppe II. Versuchsdauer: 54 Tage.				
C 6	54	106	herdförmige vereinzelte Nekrosen von Leberzellen	18	18	53	27
C 7	52	103	o. B.	—	12	55	10
C 8	50	83	herdförmige degenerative Verfettungen; neben normalen Leberzellen blasig aufgetriebene Zellen	14	11	60	10
C 9	45	94	o. B.	16	12	53	11
C 10	51	102	vereinzelte herdförmige Nekrosen von Leberzellen	16	17	83	10
			Mittelwert:	16	14	60,8	13,6

hervorgerufen wird. Außerdem ist zu bedenken, daß 1 mg Propionsäureester nur 0,71 mg Dioxydiäthylstilben entspricht. Der Vorteil der Veresterung liegt nach diesen Ergebnissen in dem langsamen Freiwerden kleiner Mengen von Dioxydiäthylstilben. Einen absoluten Schutz stellt jedoch die Veresterung nicht dar, da die frei werdenden kleinen Mengen von Dioxydiäthylstilben bereits Schädigungen verursachen, deren Grad mit der Erhöhung der Dosis des Esters und damit der Abspaltung des Dioxydiäthylstilbens wächst.

Es sei an dieser Stelle darauf hingewiesen, daß sich nach peroraler Zufuhr von täglich 1 mg Dioxydiäthylstilben in der Leber von Meerschweinchen selbst nach 73tägiger Behandlung keine toxischen Veränderungen nachweisen ließen.

2. Lymphknoten, Milz, Darm, Niere.

Lymphknoten, Milz und Darm waren bei allen Tieren unverändert. Bei den mit Oestron sowie Oestradiol behandelten Tieren waren auch die Nieren ohne Besonderheiten. Dagegen zeigten die Nieren der Tiere, die 45 Tage täglich 1 mg Dioxydiäthylstilben erhalten hatten, ähnliche Veränderungen, wie sie von Loeser [8] nach parenteraler Zufuhr von Dioxydiäthylstilben beschrieben wurden: Die Epithelien der Hauptstücke enthielten grünlich-gelbe Farbstoffkörnchen (Bilirubin). Weiterhin ist zu erwähnen, daß die beiden Nieren von Ratte D 112 schon makroskopisch eine auffallend starke grünlich-gelbe Verfärbung zeigten. Nur bei Ratte D 114 fanden sich in den Nieren keine Veränderungen.

Im Gegensatz zu den mit Oestron und Oestradiol behandelten Tieren war der Bilirubingehalt des Blutes nach Einwirkung von Dioxydiäthylstilben zeitweise erhöht. Die Aldehydprobe im Harn war positiv.

3. Geschlechtsorgane.

a) Ovarium.

Gruppe I: Versuchsdauer 12 Tage.

Oestron:	In allen Ovarien zahlreiche Corpora lutea und reifende Follikel.
Oestradiol:	Reifende Follikel in allen Entwicklungsstadien. In mehreren Ovarien sind außerdem vereinzelt Corpora lutea nachzuweisen.
Dioxydiäthylstilben:	Mit Ausnahme von Ratte D 101 enthalten alle Ovarien massenhaft Corpora lutea. Daneben finden sich außerdem reifende Follikel in allen Entwicklungsstadien.

Gruppe II: Versuchsdauer 18 Tage.

Oestron:	Zahlreiche Corpora lutea, die das Aussehen von Corpora lutea graviditatis haben, dabei nur geringe Follikelreifung. Die Ovarien der Tiere O 6 und O 10 zeigen vereinzelt ältere, in Rückbildung begriffene, Gelbkörper; gleichzeitig starke Follikelreifung.

[8] Loeser: l. c.

Oestradiol: Reifende Follikel in allen Entwicklungsstadien, bei den schwereren Tieren außerdem vereinzelt Corpora lutea.

Dioxydiäthylstilben: Reifende Follikel in allen Entwicklungsstadien. Bei Ratte D 107 und 108 außerdem massenhaft Corpora lutea.

Gruppe III: Versuchsdauer 45 Tage.

Oestron: Die Ovarien der Tiere O 12, O 14 und O 15 sind zum infantilen Organ zurückgebildet. In den Ovarien der Tiere O 11 und O 13 finden sich noch alte, in Rückbildung begriffene, Corpora lutea; auch hier ruhen die Eireifungsvorgänge.

Oestradiol: Reifende Follikel in allen Entwicklungsstadien, bei den schwereren Tieren außerdem vereinzelt Corpora lutea. Störungen der Follikelreifung, wie sie nach parenteraler Zufuhr von hohen Dosen Follikelhormon gelegentlich zu dieser Zeit beobachtet werden[9], fehlen.

Dioxydiäthylstilben: Reifende Follikel in allen Entwicklungsstadien. In den Ovarien der Tiere D 111, D 112 und D 113 außerdem zahlreiche Corpora lutea.

b) Uterus.

Gruppe I: Versuchsdauer 12 Tage.

Oestron: Keine Proliferation der Schleimhaut. Das Corpus uteri ist mit einschichtigem Zylinderepithel ausgekleidet.

Oestradiol: Starke Proliferation der Schleimhaut.

Dioxydiäthylstilben: Proliferation der Schleimhaut, jedoch schwächer als die bei den mit Oestradiol behandelten Tieren.

Gruppe II: Versuchsdauer 18 Tage.

Oestron: Bild der Corpus luteum-Phase. Mittelhohes Epithel mit mittelständigem Kern. Das Protoplasma der Epithelzellen ist aufgehellt (vergleiche die Veränderungen in den Ovarien). Nur bei den Tieren O 6 und O 10 findet sich eine geringe Proliferation der Schleimhaut (vergleiche den entsprechenden Ovarialbefund).

Oestradiol: Sehr starke Proliferation der Schleimhaut. Das Cavum uteri ist durch knospenförmige, papilläre Vorsprünge der Schleimhaut eingeengt. Auch bei den Tieren, in deren Ovarien sich Corpora lutea finden, zeigt die Uterusschleimhaut nur die typischen Zeichen der Proliferation.

Dioxydiäthylstilben: Starke Proliferation der Uterusschleimhaut. Die Veränderungen sind ebenso stark wie nach zwölftägiger Einwirkung von Oestradiol.

Gruppe III: Versuchsdauer 45 Tage.

Oestron: Zum Unterschied von Gruppe I und II starke Proliferation der Schleimhaut. Das Oberflächenepithel zeigt papilläre Sprossung. Das Stroma ist verdichtet.

Oestradiol: Bei den Tieren L 11, L 12 und L 13 starke Proliferation der Schleimhaut, Verdichtung des Stromas. Bei Ratte L 14 Hydrometra. Bei Ratte L 15 sind beide Uterushörner sowie vereinzelte Drüsen mit Plattenepithel ausgekleidet.

[9] Grumbrecht: Habilitationsschrift, im Druck.

Dioxydiäthylstilben: Geringe Proliferation der Schleimhaut. Die Drüsen sind zum Teil cystisch erweitert. Starke Verdichtung des Stromas. Bei Ratte D 112 im linken Horn Pyometra. Bei Ratte D 114 ist das rechte Uterushorn mit einem mehrschichtigen zum Teil verhornten Plattenepithel ausgekleidet.

c) Vagina.

Gruppe I: Versuchsdauer 12 Tage.

Oestron: Mehrschichtiges Plattenepithel ohne Verhornung, Verschleimung der oberflächlichen Schichten.
Oestradiol: Mehrschichtiges verhorntes Plattenepithel.
Dioxydiäthylstilben: Mehrschichtiges Plattenepithel ohne Verhornung.

Gruppe II: Versuchsdauer 18 Tage.

Oestron: Mehrschichtiges Plattenepithel ohne Verhornung.
Oestradiol: Mehrschichtiges verhorntes Plattenepithel.
Dioxydiäthylstilben: Mehrschichtiges Plattenepithel ohne Verhornung.

Gruppe III: Versuchsdauer 45 Tage.

Oestron: Mehrschichtiges verhorntes Plattenepithel.
Oestradiol: Mehrschichtiges verhorntes Plattenepithel.
Dioxydiäthylstilben: Mehrschichtiges Plattenepithel ohne Verhornung. Nur bei den Tieren D 111 und D 114 findet sich eine geringe Verhornung.

d) Brustdrüse.

Gruppe I: Versuchsdauer 12 Tage.

Oestron: Deutliche Läppchenbildung. Die Drüsen zeigen dieselben Veränderungen, wie sie während der Gravidität zu sehen sind.
Oestradiol: Erweiterung der Acini, die bei mehreren Tieren ebenso wie die Ausführungsgänge mit Sekret gefüllt sind.
Dioxydiäthylstilben: Keine Proliferationsvorgänge.

Gruppe II: Versuchsdauer 18 Tage.

Oestron: Auch hier zeigen die Drüsen wieder dieselben Veränderungen, wie sie während der Gravidität zu beobachten sind.
Oestradiol: Vermehrung der Acini, Erweiterung der Ausführungsgänge. Beide enthalten Sekret.
Dioxydiäthylstilben: Keine Proliferationsvorgänge.

Gruppe III: Versuchsdauer 45 Tage.

Oestron: Starke Vermehrung der Acini. Erweiterung der Acini und der Ausführungsgänge, welche beide mit Sekret gefüllt sind.
Oestradiol: Wie bei Gruppe II.
Dioxydiäthylstilben: Erweiterung der Acini, in den Acini und in den Ausführungsgängen Sekret.

4. Hypophyse.

Die Hypophyse zeigte bei den Tieren der Gruppen I und II (Versuchsdauer: 12 bzw. 18 Tage) keine Besonderheiten. Nach 45tägiger

Einwirkung fand sich histologisch in allen Drüsen eine Hyperämie. Außerdem erscheint die Zahl der Hauptzellen bei den mit Oestradiol sowie mit Dioxydiäthylstilben behandelten Tieren in geringem Grade vermehrt.

5. Schilddrüse.

Gruppe I: Versuchsdauer 12 Tage.

Oestron: Normale Drüsen (hohes kubisches Epithel mit rundem mittelständigem Zellkern, wenig Kolloid).

Oestradiol: Normale Drüse.

Dioxydiäthylstilben: Mit Ausnahme von Ratte D 100 finden sich in allen Drüsen die Zeichen der beginnenden Ruhigstellung (Abnahme der Epithelhöhe, vollständig mit Kolloid gefüllte Follikel).

Gruppe II: Versuchsdauer 18 Tage.

Oestron: } Beginnende Ruhigstellung der Drüse.
Oestradiol: }

Dioxydiäthylstilben: Wechselnder Befund: Normale und ruhig gestellte Drüsen.

Gruppe III: Versuchsdauer 45 Tage.

Oestron: }
Oestradiol: } Bei allen Tieren Ruhedrüsen.
Dioxydiäthylstilben: }

6. Nebennieren.

Gruppe I: Versuchsdauer 12 Tage.

Oestron: } Ohne Besonderheiten.
Oestradiol: }

Dioxydiäthylstilben: Bei Ratte D 103 und D 104 Erweiterung der kapillären Gefäße. Alle Nebennieren fast fettfrei. Nur die äußeren Teile der Zona fasciculata enthalten noch Spuren von Fett in Form feiner Tropfen.

Gruppe II: Versuchsdauer 18 Tage.

Oestron: } Ohne Besonderheiten.
Oestradiol: }

Dioxydiäthylstilben: Mit Ausnahme von Ratte D 107 sind die Nebennieren fast frei von Fett und dunkelbraun gefärbt.

Gruppe III: Versuchsdauer 45 Tage.

Oestron: Ohne Besonderheiten.

Oestradiol: Die Nebennieren der Tiere L 11, L 13 und L 15 sind fettarm, die der übrigen Tiere unverändert.

Dioxydiäthylstilben: Starke Erweiterung der kapillären Gefäße. Die Nebennieren der Tiere D 111 und D 112 sind fettarm, die von Ratte D 110 ist fast fettfrei.

7. Andere innersekretorische Organe.

Thymus und Epithelkörperchen wiesen keine Besonderheiten auf. Auch das Pankreas war unverändert. Eindeutige Abweichungen der Blutzuckerwerte von der Norm waren mit Ausnahme der Tiere, die 45 Tage Oestradiol erhalten hatten, nicht festzustellen (Tabelle 3).

Tabelle 2. Das Verhalten des Gewichtes innersekretorischer Organe von Ratten nach Behandlung mit Oestron, Oestradiol und Dioxydiäthylstilben (pro die 1 mg per os).

Oestron							Oestradiol							Dioxydiäthylstilben						
Tier	Tiergewicht in g		Organgewicht in mg				Tier	Tiergewicht in g		Organgewicht in mg				Tier	Tiergewicht in g		Organgewicht in mg			
	zu Beginn	am Ende	Ovarium	Schilddrüse	Nebenniere	Hypophyse		zu Beginn	am Ende	Ovarium	Schilddrüse	Nebenniere	Hypophyse		zu Beginn	am Ende	Ovarium	Schilddrüse	Nebenniere	Hypophyse
Nr.	des Versuchs						Nr.	des Versuchs						Nr.	des Versuchs					
Gruppe I. Versuchsdauer 12 Tage. (Gesamtmenge der zugeführten Substanz 11 mg).																				
O 1	66	70	14	12	29	5								D 100	79	80	46	15	44	7,5
O 2	65	76	25	12	29	5,5	L 2	80	105	16	20	51	6,5	D 101	76	73	30	10	37	7,5
O 3	70	68	20	10	36	5,5	L 3	64	71	18	17	53	6,5	D 102	65	54	18	7	34	5
O 4	59	66	24	8	23	4,5	L 4	74	84	17	16	60	6,0	D 103	63	60	29	10	30	6
O 5	62	71	19	12	32	5,5	L 5	81	96	18	17	47	7,0	D 104	75	69	20	10	54	4,5
	Mittelwert:		20,4	10,8	29,8	5,2		Mittelwert:		17,2	17,5	52,7	6,5		Mittelwert:		28,6	10,4	39,8	6,1
Gruppe II. Versuchsdauer 18 Tage. (Gesamtmenge der zugeführten Substanz 17 mg).																				
O 6	64	72	18	13	36	4	L 6	64	75	20	18	45	6	D 105	68	75	11	9	31	8
O 7	78	74	47	12	37	4	L 7	83	113	22	20	56	10	D 106	70	74	8	6	20	4,5
O 8	69	66	38	12	36	4	L 8	63	75	16	12	40	7	D 107	53	42	17	9	29	7
O 9	72	63	25	12	35	7	L 9	55	85	12	18	34	6	D 108	73	70	42	10	39	7
O 10	75	82	17	12	43	9								D 109	63	53	12	10	29	6,5
	Mittelwert:		29	12,2	37,4	5,6		Mittelwert:		17,5	17	43,7	7,2		Mittelwert:		18	8,1	29,6	6,1
Gruppe III: Versuchsdauer 45 Tage. (Gesamtmenge der zugeführten Substanz 44 mg).																				
O 11	77	104	25	13	59	20	L 11	47	88	11	10	38	12	D 110	60	86	11	10	74	8
O 12	68	95	14	14	56	7	L 12	50	85	11	17	41	9	D 111	62	82	21	18	48	12
O 13	71	75	22	16	53	10	L 13	53	85	12	15	40	8	D 112	70	80	22	13	82	14
O 14	66	82	15	10	47	10	L 14	51	99	21	17	47	15	D 113	65	76	14	12	48	6
O 15	51	55	13	10	40	10	L 15	71	105	25	17	64	16	D 114	62	90	16	13	51	11
	Mittelwert:		17,8	12,6	51	11,4		Mittelwert:		16	15,2	46	12		Mittelwert:		16,8	13,2	60,6	10,2

Die Tiere L 1 und L 10 gingen während des Versuchs an einer Bronchopneumonie zugrunde.

Tabelle 3. Der Einfluß von Oestron, Oestradiol und Dioxydiäthylstilben (pro Tier und Tag 1 mg per os) auf den Blutzucker von Ratten.

Oestron		Oestradiol		Dioxydiäthylstilben	
Tier Nr.	Blutzucker in mg%	Tier Nr.	Blutzucker in mg%	Tier Nr.	Blutzucker in mg%
		Gruppe I. Versuchsdauer 12 Tage.			
O 1	111			D 100	107
O 2	95	L 2	119	D 101	104
O 3	97	L 3	120	D 102	99
O 4	104	L 4	—	D 103	104
O 5	112	L 5	102	D 104	99
Mittelwert:	103,8		113,6		102,6
		Gruppe II. Versuchsdauer 18 Tage.			
O 6	111	L 6	104	D 105	102
O 7	130	L 7	120	D 106	99
O 8	113	L 8	112	D 107	109
O 9	99	L 9	116	D 108	112
O 10	111			D 109	103
Mittelwert:	112,8		113		105
		Gruppe III. Versuchsdauer 45 Tage.			
O 11	90	L 11	130	D 110	99
O 12	99	L 12	129	D 111	90
O 13	81	L 13	132	D 112	72
O 14	92	L 14	145	D 113	90
O 15	88	L 15	127	D 114	92
Mittelwert:	90		132,6		88,6

V. Besprechung der Versuchsergebnisse.

Vergleicht man die gefundenen Veränderungen nach peroraler Einwirkung gleicher Gewichtsmengen Oestron, Oestradiol und Dioxydiäthylstilben, dann ergeben sich grundsätzliche Unterschiede. Die wichtigste Feststellung ist die, daß sowohl Dioxydiäthylstilben als auch der Propionsäureester des Dioxydiäthylstilbens im Gegensatz zu körpereigenen Brunststoffen toxische Nebenwirkungen verursachen. In der Leber treten Schädigungen auf, die pathologisch-anatomisch in Nekrosen und degenerativer Verfettung von Leberzellen, funktionell in einer vorübergehenden Erhöhung des Bilirubinspiegels zum Ausdruck kommen. In ausgeprägten Fällen treten dabei auch ikterische Veränderungen in den Nieren auf.

Wirkungsunterschiede lassen sich auch an anderen Organen nachweisen. Besonders auffällig ist zunächst das Verhalten der Brustdrüse. Unter den geprüften Substanzen zeigte Oestron die stärkste Wirkung. Nach 12- bzw. 18tägiger Behandlung kommt es über die typischen Proliferationsvorgänge hinaus zu einer Umbildung der Drüse, wie wir sie von der Schwangerschaft her kennen (Wirkung der schwangerschaftsähnlichen

Corpora lutea?). Oestradiol bewirkt in der gleichen Zeit nur eine Proliferation der Drüse. Nach Verabreichung von Dioxydiäthylstilben wird die Brustdrüse in den ersten 18 Tagen der Behandlung überhaupt nicht verändert. Proliferative Vorgänge treten erst nach 45 Tagen auf.

Eine sichere Verhornung des Scheidenepithels wird durch Dioxydiäthylstilben im Gegensatz zu Oestron und Oestradiol erst nach 45tägiger Behandlung bewirkt. Die Hornlamellen zeigen dabei eine mehr basophile Färbung und sind nicht in dem Ausmaß vorhanden wie bei den Oestron- und Oestradiol-Tieren.

Schließlich sei noch auf die Veränderungen in den Ovarien nach Einwirkung von Oestron hingewiesen. Es kommt hierbei zur Bildung von Corpora lutea, die sich durch ihre Größe und ihre Färbbarkeit deutlich von den nach Oestradiol- und Dioxydiäthylstilbenbehandlung auftretenden Corpora lutea unterscheiden. Das histologische Bild erinnert an Corpora lutea graviditatis. Daß es sich hierbei um funktionstüchtige Gelbkörper handeln muß, zeigen die Veränderungen der Uterusschleimhaut, der Vaginalschleimhaut und der Brustdrüse. Obwohl auch in den Ovarien der Ostradiol- und Dioxydiäthylstilben-Tiere verschiedentlich Corpora lutea auftraten, war eine typische Corpus-luteum-Wirkung an Uterus, Vagina und Brustdrüse nicht festzustellen. Vermutlich wird bei diesen Tieren die Wirkung des Corpus-luteum-Hormons durch die des Follikelhormons überdeckt. Wie diese Reaktionsverschiedenheit zustande kommt, ist nicht bekannt.

Während nach 45tägiger Einwirkung von Oestron, Oestradiol und Dioxydiäthylstilben in den Ovarien noch Follikel zu Graafschen Bläschen ausreifen, fanden wir nach Verabreichung von Dioxydiäthylstilben-Diproprionat bereits nach 25 Tagen ein vorzeitiges Zugrundegehen der Follikel (cystische Atresie). Nach 54 Tagen waren in keinem Ovarium mehr Corpora lutea nachzuweisen. Die Atresie betraf hier sowohl die großen als auch die kleinen Follikel.

Die Schilddrüsen zeigten bei allen Versuchsgruppen nach 45 Tagen das Bild der Ruhedrüse. Die histologische Untersuchung der Nebennieren ergab, daß nur nach Zufuhr von Dioxydiäthylstilben Veränderungen auftraten. Sie bestehen in einer Erweiterung der kapillären Gefäße und einer Fettverarmung der Rinde. Die Reaktion der Hypophyse war, im Gegensatz zur parenteralen Verabreichung, bei peroraler Zufuhr von Oestron, Oestradiol und Dioxydiäthylstilben auffallend gering.

VI. Zusammenfassung.

Die Wirkungen gleicher Gewichtsmengen Oestron, Oestradiol und Dioxydiäthylstilben auf den Allgemeinzustand, die Geschlechtsorgane, die innersekretorischen Drüsen und die parenchymatösen Organe normaler Ratten nach peroraler Zufuhr wurden untersucht.

1. Gröbere Veränderungen des Allgemeinbefindens sind nicht nachzuweisen.

2. Toxische Veränderungen in der Leber treten nur nach Einwirkung von Dioxydiäthylstilben auf. Schädigungen finden sich auch nach Verabreichung von Dioxydiäthylstilben-Dipropionat.

3. Die unterschiedlichen Wirkungen von körpereigenen und künstlichen Brunststoffen auf die Geschlechtsorgane und die innersekretorischen Drüsen werden im einzelnen beschrieben.

Die Untersuchungen werden fortgesetzt.

Ausgeführt mit Mitteln der Freiburger Wissenschaftlichen Gesellschaft.

Für die Überlassung der erforderlichen Substanzen sei auch an dieser Stelle den Firmen Schering A.-G., Berlin, und I. G.-Farbenindustrie, Elberfeld, gedankt.

Arbeit des Pharmazeutischen Laboratoriums des Krankenhauses Ambroise-Paré, Boulogne-Billancourt (Frankreich).

Quantitative Studie der Wirkung der Lokalanaesthetica auf den isolierten Nerven durch die Messung der Chronaxie (L. Lapicque). Energetische Formel der Erregbarkeit (H. Lassalle und L. Lapicque), unter Berücksichtigung der Veränderungen der elektrischen Resistenz der Nerven.

Von

Jean Régnier und **André Quevauviller.**

Mit 9 Textabbildungen (= 11 Einzelbildern).

(Eingegangen am 18. Mai 1938.)

ERSTER TEIL.

A. Einleitung *).

Es scheint uns notwendig, die wichtigsten Arbeiten, die die Messung der Veränderungen der Erregbarkeitsparameter (Rheobase und Chronaxie) zum Studium der Wirkung der Lokalanaesthetica auf den isolierten Nerven von Rana esculenta verwendeten, in Erinnerung zu rufen.

L. und M. Lapicque und R. Legendre[1] stellten im Jahre 1914 fest, daß das salzsaure Cocain, in mäßiger Dosis, im motorischen Nerven von Rana esculenta eine Steigerung der Rheobase und eine Senkung der Chronaxie, die sich aber bald stabilisiert, hervorruft. Eine Ausspülung mit Ringerlösung zeigte eine völlige Umkehrbarkeit dieser Erscheinungen.

R. Dériaud und H. Laugier[2] machten im Jahre 1921 dieselbe Wahrnehmung mit Hilfe des salzsauren Paraaminobenzoyldiäthylaminoäthanols (Syncain) und dachten daran, diese Erscheinung zur Messung der lokalanästhetischen Wirkungskraft benutzen zu können.

Der eine von uns studierte im Jahre 1926 (im Laboratorium und unter Leitung von Herrn Prof. H. Cardot[3]) dieselbe Erscheinung in systematischer Weise und stellte fest, daß eine passende Dosis von salzsaurem Cocain (sowie von anderen Substanzen) in der Umgebung der Elektroden auf den Nerven von Rana esculenta aufgetragen, die Chronaxie bis zu einem Minimum sinken und sie hierauf, nach einem gewissen Zeitpunkt, wieder aufsteigen läßt. Er zeigte (was schon aus den Arbeiten L. Lapicques hervorgeht), daß die Veränderungen der Rheobase viel unregelmäßiger sind als die der Chronaxie und daß es sich zuerst um eine Steigerung, dann um eine Stabilisierung, und schließlich um eine Senkung handle. Außerdem stellte er fest, daß diese Erscheinungen gewöhnlich im Laufe des Aufstiegs der Chronaxie auftreten, manchesmal aber auch etwas verspätet sind. Die folgende Tatsache schien ihm besonders bemerkenswert. Das Maximum der Senkung der

---

* Wir betrauten mit der Übersetzung Herrn Dr. L. Seidner, wofür wir ihm hier bestens danken. — [1] Lapicque, L. u. M., u. R. Legendre: C. r. Ac. Sc. **158**, 803 (1914); **158**, 1592 (1914); C. r. Soc. Biol. **77**, 54 (1914). — [2] Dériaud, R., u. H. Laugier: C. r. Soc. Biol. **85**, 324 (1921). — [3] Cardot, H., u. J. Régnier: Bul. Sci. pharmacol. **33**, 10 (1926).

Chronaxie wechselte regelmäßig, je mehr oder weniger die salzsaure Lösung des Cocains konzentriert war. Nachdem er die prozentuale Konzentration in die Abszisse und das mittlere prozentuale Senkungsmaximum der Chronaxie in die Ordinate eines Koordinatensystems eingetragen hatte, erhielt er eine um vieles regelmäßigere Konzentrationswirkungskurve als die, die sich aus der prozentualen Steigerung der Rheobase oder aus der Zeit der Unerregbarkeit ergibt. Er machte daher [4] zur Messung der relativen Wirkungskraft der Lokalanaesthetica den Vorschlag, die Konzentrationswirkungskurve des salzsauren Cocains als Test zu verwenden. Er suchte die mittlere Senkung einer gegebenen Dosis eines bestimmten Anaestheticums (besonders der Dosen, die eine starke Veränderung der Chronaxie hervorrufen), und er verglich diese Dosis mit derjenigen des salzsauren Cocains, die die gleiche Senkung ergibt. Diese Methode, die den großen Vorteil besitzt, unabhängig von der Zeit zu sein, die man benötigt, um einen gewissen narkotischen Effekt hervorzurufen (man weiß, daß zwischen dieser Zeit und der anästhetischen Wirkung kein festes Verhältnis besteht, wenn man an die große Anzahl und an die unregelmäßige Gruppierung der Fasern denkt), erlaubte es ihm, die anästhetische Wirkung des Cocains mit der des d-Pseudococains, des Novocains, des Stovains, des Butellins und des Tutocains zu vergleichen.

G. Valette [5] verwendete hierauf dieselbe Methode zum Studium der Pharmakodynamik der Benzhydrylamine. Diese Substanzen wurden im Laboratorium des Herrn Prof. Tiffeneau, von Chambon [6] im Laufe seiner Untersuchungen über die lokalanästhetische Wirkung der tropischen Ester und der verschiedenen Aminoalkohole hergestellt.

Außer der Anwendung dieser Methode hat der eine von uns als Mitarbeiter von H. Cardot [7] auf den sensiblen iterativen Nervus ischiadicus des Frosches (gekreuzter Reflex), und unter Mitarbeit von G. Valette [8] auf den sensiblen nichtiterativen Nervus lingualis des Hundes (linguo-maxillarer Reflex [9]), unter Mitarbeit von B. Briolet [10] weiterhin gezeigt, daß die Jahreszeit und das Geschlecht der Tiere (Rana esculenta) einen großen Einfluß auf die Empfindlichkeit der neuromuskulären Präparate für die Wirkung der Medikamente besitzen. Die verschiedenen Apparaturen mit ihrer Genauigkeit, ihrer Empfindlichkeit und ihren besonderen, stets schwer zu definierenden Charakteristiken können ihrerseits auf die gefundenen Werte einen, wenn auch relativen, aber doch sicheren Einfluß ausüben. Es ist daher zur Herstellung der Konzentrationswirkungskurve des Cocains, die zum Vergleich der Wirkung der Lokalanaesthetica mit der des Cocains dienen soll, unbedingt notwendig, die gleichen Bedingungen (gleiche Jahreszeit, gleiche Herkunft der Tiere und gleiche Apparate) wie für alle übrigen Substanzen zu schaffen.

Eine große Anzahl von Autoren haben unterdessen die qualitative und quantitative Wirkung der Lokalanaesthetica auf die Parameter der Erregbarkeit des motorischen Nerven untersucht ohne die geringste Berücksichtigung der Versuche von denen wir sprechen.

---

[4] Régnier, J.: „Méthodes de mesure de l'activité des Anesthésiques locaux." Thèse Doct. Méd. 1929, Paris. — [5] Valette, G.: „Sur quelques benzhydrylamines et phénylbenzylméthylamines alcoxylées et halogénées. Etude Chimique et pharmacodynamique". Thèse Doct. Pharmacie. 1926, Paris. — [6] Chambon, M.: „Contribution à l'étude des anesthésiques locaux esters tropiques de quelques amino-alcools anesthésiogènes." Thèse Doct. Sciences 1930, Lyon. — [7] Cardot, H., u. J. Régnier: C. r. Soc. Biol. **95**, 1247 (1926); J. Physiol. et Path. gén. **25**, 37 (1927). — [8] Régnier, J., und G. Valette: Bull. Sci. pharmacol. **36**, 284 (1929). — [9] Bonnard, Y. („Sur quelques o. alcoyloxybenzhydrylamines". Thèse de pharmacie 1930, Paris) u. D. Bovet (Arch. internat. Pharmacodynam. **41**, 103, 1931) haben die Wirkung der Lokalanaesthetica auf linguo-maxillarer Reflex studiert. — [10] Régnier, J., u. B. Briolet: J. Physiol. et Path. gén. **32**, 62 (1934).

Wir erinnern bei dieser Gelegenheit an die von Magnitski und Mushejew[11], von Shimizu, Seichi und Soichi Alin[12] mit dem salzsauren Cocain, von Hou Choung Lien[13] mit dem Psicain und von H. Siems[14] mit dem Novocain (von diesem auf den Muskel) ausgeführten Untersuchungen, die vom quantitativen Standpunkt aus eine Bestätigung der gegensätzlichen Veränderungen der Chronaxie nnd der Rheobase darstellen.

Knoefel[15] beschrieb im Jahre 1935, im Gegensatz zu allen diesen Autoren, eine primäre Steigerung der Chronaxie. Seine Ergebnisse können jedoch nicht ohne weiteres hingenommen werden, denn Knoefel führte die meisten seiner Versuche mit flüssigen Elektroden aus, ein Verfahren, das von L. Lapicque ausdrücklich abgelehnt worden ist, denn man erhalte auf diese Weise die sogenannten „falschen Chronaxien". Knoefel berechnet außerdem die Chronaxie nach einer Kurve, die die Änderungen der Durchströmungszeit als eine Funktion der Stromstärke darstellt. Dieses Verfahren legt die Vermutung nahe, daß das Präparat einer übertriebenen Ermüdung ausgesetzt wird, und zweitens, daß der so erhaltene Wert der Chronaxie äußerst zweifelhaft ist, da er nicht durch eine Kontrolle der Rheobase bestätigt ist.

Andere Arbeiten verdienen mehr Berücksichtigung und unter diesen vor allem die mehr theoretischen Ausführungen J. Sivadjians[16]. Dieser Autor legt das Hauptgewicht auf die folgenden zwei Feststellungen:

1. Die Senkung der Chronaxie ist von einer Steigerung der Permeabilität begleitet, was schon aus den Beobachtungen L. Lapicques und seiner Schüler hervorgeht.

2. Die Anästhesie ist von einer Verminderung der Permeabilität begleitet; was durch zahlreiche Untersuchungen der verschiedensten Gewebe bestätigt ist und was letzten Endes bedeutet, daß eine Senkung der Chronaxie einer Steigerung der Erregbarkeit entspricht[17].

Es folgt daher logischerweise aus diesen Feststellungen, daß die Lokalanaesthetica in ihrer ersten Wirkungsphase, d. h. in der, die einer Senkung der Chronaxie entspricht, die Erregbarkeit des Nerven steigern, und daß die eigentliche narkotische Phase erst der entspräche, die den anästhetischen Wiederaufstieg der Chronaxie zum Ausdruck bringt.

Sollte diese Theorie richtig sein, dann hätte der eine von uns, als er seine Methode des Vergleichs der anästhetischen Wirksamkeit auf die Messung des Senkungsmaximums der Chronaxie aufbaute, nicht die anästhetische Wirkung, sondern vielmehr die vornarkotische Übererregbarkeit gemessen.

Wir[18] haben aber gezeigt, als wir die Verhältnisse zwischen Chronaxie und Permeabilität einerseits und zwischen Narkose und Permeabilität andererseits

---

[11] Magnitski u. Mushejew: Pflügers Arch. **226**, 1 (1930); **232**, 604 (1933). — [12] Schimizu, Seichi, u. Soichi Alin: Jap. J. med. Sci. Trans. IV Pharmacol. **8**, 64 (1935). — [13] Lien, Hou Choung: Pflügers Arch. **226**, 676 (1931). — [14] Siems, H.: Dtsch. Z. Nervenhk. **129**, 131, 169, 287 (1933). — [15] Knoefel, P. K.: J. Pharmacol. (Am.) **55**, 72 (1935). — [16] Sivadjian, J.: Bull. Sci. pharmacol. **40**, 292 (1933). — [17] Man darf nicht außer acht lassen, wie unpassend es meistens ist, anzunehmen, daß eine Senkung der Chronaxie eine Steigerung der Erregbarkeit bedeutet und vice versa. Wir werden später zeigen, wie nötig es ist, wenn man einen annehmbaren Ausdruck für die Veränderung der Erregbarkeit sucht, nicht nur die Änderung der Chronaxie, sondern noch zumindest die Änderung der Rheobase zu berücksichtigen. — [18] Régnier, J., u. A. Quevauviller: Anesth. et Analg. **4**, 172 (1938); J. Physiol. et Path. gén. **36**, 629 (1938); siehe Gellhorn, E., u. J. Régnier: „La perméabilité en physiologie et en pathologie générale" 1936, Masson édit. Paris.

BOSTON MEDICAL
JAN 23 1940

untersuchten, und wir werden es später noch an Hand neuer Messungen zeigen, daß eine solche Annahme unhaltbar ist.

B. Kritik der experimentellen Feststellungen von W. Laubender und M. Saum und ihrer theoretischen Folgerungen.

Die Arbeit, mit der wir uns jetzt näher beschäftigen werden, ist von W. Laubender und M. Saum[19] in diesem Archiv veröffentlicht worden (worauf wir für alle Einzelheiten verweisen). Es handelt sich darin ganz besonders um den praktischen Wert unserer Methode, denn die genannten Autoren glaubten festgestellt zu haben, daß die Senkung der Chronaxie ein äußerst schlechtes Kriterium für die Beurteilung der anästhetischen Wirksamkeit chemischer Substanzen sei.

Als diese beiden Autoren im Jahre 1933 die Wirkung einiger neuer Lokalanaesthetica untersuchen wollten, benutzten sie die Änderungen der Rheobase und die der Chronaxie des motorischen Nerven von Rana esculenta unter dem Einfluß dieser Substanzen. Sie untersuchten bei dieser Gelegenheit die Wirkung zweier neuer Lokalanaesthetica, die des Pantocains und die des Percains, und verglichen deren Wirkung mit der des Cocains.

α) Die beiden Autoren fanden, unter den Bedingungen, die wir angegeben haben (d. h. nach Applizierung der lokalanästhetischen Lösung auf den Ort der Reizung) für das Cocain und für das Pantocain keinesfalls die regelmäßigen Abhängigkeiten zwischen Konzentration und Senkung der Chronaxie, wie sie der eine von uns für das Cocain und der andere[20] von uns für viele andere Lokalanaesthetica derselben Art in zahlreichen Fällen feststellen konnte. Es unterliegt für uns keinem Zweifel, daß die beiden deutschen Autoren eine wichtige Erscheinung entweder nicht beobachtet oder nicht genug berücksichtigt haben. Es handelt sich um die vorübergehende Phase der Chronaxie, die unabhängig von der Zeit, von einer sekundären Steigerung gefolgt ist, und die die Basis aller unserer Experimente darstellt. Diese maximale Senkung der Chronaxie kann für starke Dosen vor der zehnten Minute und für mittlere Dosen nach ungefähr 30 oder 40 Minuten eintreten. Die genannten Autoren aber haben den charakteristischen Punkt ihrer Untersuchungen in das Ende der chronaxialen Bewegung verlegt, d. h. in eine Periode, die ziemlich weit vom Beginn des Experiments entfernt ist ($1^1/_2$ Stunden) und die für sie in dem Abschnitt der Kurve, der eine parallele Stellung zur Abszissenachse einnimmt, ihren Ausdruck findet. Sie haben, anders gesagt, die Erscheinungen, die die ersten 30 oder 40 Minuten der Chronaxie charakterisieren, ganz übersehen und haben das Hauptgewicht ihrer Untersuchungen auf einen Zeitpunkt verlegt, der für uns nicht mehr für eine reine Narkose charakteristisch ist. Sie waren daher gezwungen, gewisse zeitgebundene Werte der Chronaxie zu berücksichtigen, die für uns nicht mehr dieselbe Bedeutung besitzen.

β) Dieselben Autoren haben, nach einer Applizierung der lokalanästhetischen Lösung unterhalb vom Erregungsort, viel regelmäßigere aber ganz verschiedene Änderungen der Chronaxie gefunden als mit der vorigen Technik. Da wir diese Technik nicht benutzt haben, ist es uns unmöglich, diese Resultate zu diskutieren. Aber wir erlauben uns zu bemerken, daß diese Untersuchungen absolut nicht mit denen identisch sind, die seit jeher von L. Lapicque vorgeschlagen worden sind. Es scheint keinem Zweifel zu unterliegen, daß die Chronaxie ausschließlich den Zustand dieses Ortes charakterisiert, der der Erregung ausgesetzt ist, wobei natürlich

---

[19] Laubender, W., u. M. Saum: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **171**, 619 (1933). — [20] Quevauviller, A.: „Recherches sur l'excitabilité du nerf moteur au courant galvanique". Thèse de Pharmacien Supérieur, Paris 1938.

eine sofortige und eindeutige Erregung des Gewebes Voraussetzung ist; d. h. in unserem Falle, die Übertragung der Erregung auf den Muskel nun ohne Hindernis vor sich gehen könne. Wenn aber dieses Hindernis durch eine Anästhesie unterhalb vom Erregungsort geschaffen wird, d. h. wenn die Leitfähigkeit des Nerven unterdrückt oder verringert wird, oder mit anderen Worten, wenn die Erscheinung des Erregungstestes unterdrückt oder verzögert ist, dann handelt es sich nicht um eine Änderung der Chronaxie des Erregungsortes, sondern einfach um die Abhängigkeit ihrer Messung von einem neuen Faktor, der Erregungsleitung, deren Einfluß uns heute noch wenig bekannt ist. Es handelt sich in diesem Falle um ein neues, äußerst wichtiges Problem, das aber nichts mit unseren chronaxialen Studien zu tun hat und es scheint uns daher nicht erstaunlich, daß auf diese Weise andere Resultate als die unsrigen erhalten wurden.

γ) Zum Schluß, und dieser Punkt scheint uns besonders wichtig, verhält sich das Percain unter vielen Umständen ganz verschieden von den anderen. Für die starken Dosen ist eine Verringerung der Rheobase (der eine Steigerung der Chronaxie vorausgeht) und für alle Dosen, im allgemeinen eine unregelmäßige Wirkung charakteristisch[21].

Diese Wirkungsverschiedenheit, die das Percain als einen atypischen Stoff erscheinen läßt, erklärt sich leicht durch die besondere chemische Beschaffenheit dieses Körpers. Es handelt sich um ein Derivat des Chinins (ein salzsaures diäthyläthylendiamid der α-oxybutylcinchoninischen Säure), während die anderen hauptsächlichen Lokalanaesthetica benzoische oder amino-benzoische Ester der Aminoalkohole sind.

Um das besondere Verhalten dieser Substanz verstehen zu können, haben die deutschen Wissenschaftler theoretische Erwägungen angestellt, die wir schon eingehend erörtert haben, so daß wir nicht weiter darauf eingehen müssen. Wir verweisen auf unsere französische Veröffentlichung[22]. Hier wollen wir insbesondere die Versuche beschreiben, die uns ermöglicht haben, durch eine einfache Formel das Verhältnis zwischen den Veränderungen der Rheobase und der Chronaxie einerseits und derjenigen der Erregbarkeit andererseits zu bestimmen und dabei den Widerstand des Nervenabschnittes der Wirkung der verschiedenen Anästhetica zu berücksichtigen. Diese Formel beruht, wie wir später sehen werden, auf den Anschauungen von Lassalle, die von Lapicque aufgenommen und entsprechend weiterentwickelt wurden.

Die so erhaltenen Resultate erlaubten es uns erstens zu beweisen, daß die Hypothese von J. Sivadjian einer langen vornarkotischen Übererregbarkeit (die sich durch eine primäre Senkung der Chronaxie ausdrückt) unhaltbar sei und zweitens zu begreifen, durch welche speziellen Wirkungen das Percain sich von den gewöhnlichen Anaesthetica des Cocaintypus unterscheidet. Schließlich haben sie es uns erlaubt, die Schwierigkeiten des Studiums der narkotischen Substanzen von besonderem Typus durch die Anwendung einer Formel der Erregbarkeit, die die drei wesentlichen Ausdrücke (Chronaxie, Rheobase und Widerstand des Nervenabschnittes) des Problems enthält, zu beseitigen.

---

[21] Wir erinnern bei dieser Gelegenehit, daß D. Bovet [Arch. internat. Pharmacodynam. **41**, 103 (1931)] die Wirkung des Percains mit der eines anderen Stoffes auf den Nervus lingualis des Hundes nach unserer chronaximetrischen Methode vergleichen konnte und daß E. Trabucchi [Atti Soc. med. chir. Padova **14**, 531 (1936)] mit derselben Methode quantitative Ergebnisse über die Wirkung einiger Alkaloide des Erythrophleum guineense, im Vergleich zu der des Percains auf den isolierten Nerven erhalten haben will. — [22] Siehe Anm. 18, S. 50.

ZWEITER TEIL.

A. Messung der Rheobase und der Chronaxie durch das Präzisionschronaximeter von L. Lapicque. — Prinzip und Technik der Messung des Widerstandes eines der Wirkung von Medikamenten unterworfenen Nervenabschnittes gegen den galvanischen Strom. — Charakterisierung der Erregbarkeit durch die energetische Formel $\frac{1}{R \times (2\,I)^2 \times \tau}$ nach H. Lassalle und L. Lapicque.

a) Prinzipien der Messung des Widerstandes eines Nerven gegen den elektrischen Strom.

Der eine von uns hat unter Leitung von H. Cardot und in bisher unveröffentlichten Versuchen beobachtet, daß die Chronaxie des motorischen Nerven von Rana esculenta, unter der Wirkung des Paraphenoxybenzhydrylamins, in derselben Zeit wie die rheobasische Spannung sinkt. Diese Erscheinung bedeutet unzweifelhaft eine Ausnahme von der Regel der gegensätzlichen Änderung der zwei Parameter.

Daher wurde die rheobasische Stärke gemessen und da ein Aufstieg festzustellen war, schloß er auf eine Senkung des Widerstandes des Nervenstammes. Zur Messung der rheobasischen Stärke war in den Nervenstromkreis ein Spiegelgalvanometere eingeschaltet, durch welches nach Bestimmung der Chronaxie ein Gleichstrom unter rheobasischer Spannung geschickt wurde. Nach vorhergehender Eichung des Instrumentes konnte man die Intensität feststellen und auf mathematischem Wege den Widerstand des Präparates erhalten.

Aber diese Methode hatte einen Nachteil. Da die Stabilisierungszeit des Spot nur wenige Sekunden dauerte, war eine Zustandsveränderung des Nervenabschnittes durch eine Polarisation oder Ermüdungserscheinung nicht ausgeschlossen. Die Widerstandswerte, im normalen Zustand berechnet, waren tatsächlich äußerst variabel. Wir haben daher unter Berücksichtigung der Einwände von J. Sivadjian und von W. Laubender für unsere neuen Versuche eine andere Technik gewählt.

Wir dachten zuerst daran, die Kohlrauschsche Brücke anzuwenden. Aber das Hindurchgehen eines Wechselstromes, wie schwach er auch sein mag, schien uns für die Nervenzelle zu ermüdend und die Montierung der Apparate zu kompliziert zu sein.

Wir zogen es daher vor die Elektrizitätsmenge, die durch den Nerven hindurchgeht, auf folgende Weise abzuschätzen: Wir stellten zuerst den Ausschlag fest, den das Hindurchgehen eines Stromes während einer konstanten und möglichst kurzen Zeit in einem ballistischen Galvanometer hervorruft. Wenn wir hierauf an die Stelle des Nervenpräparates eine geeichte Widerstandsröhre setzen, dann konnten wir als Widerstand des Nerven den Widerstand ansehen, der unter derselben Spannung und derselben Stromdauer den Spot des Galvanometers auf dieselbe maximale Stellung bringt. Nachdem wir so die Spannung und den Widerstand festgestellt hatten, war es uns sehr leicht die Intensität abzuleiten.

Um alle Bedingungen einer Chronaxiemessung zu erfüllen, hätte natürlich die Stromdauer, die wir angewendet hatten, von der gleichen Größenordnung wie die einer Chronaxie sein müssen, d. h. von ungefähr 0,3 σ. Aus denselben Erwägungen heraus hätten wir eine Spannung anwenden müssen, die das Doppelte der Rheobase gewesen wäre.

Aber wir wissen seit L. Lapicque, daß die Elektrizitätsenergie, die zur Erregung eines Froschgastrocnemius auf dem Wege seines motorischen Nerven notwendig ist, von der Größe eines tausendstel Erg ist und daß der Längsschnitt des nervus ischiadicus zwischen 50 und 100000 Ohm liegt. Da die mittlere Chronaxie einen Wert von 0,3 σ hat, schließt man auf eine rheobasische Intensität von ungefähr

ein millionstel Ampére. Die Elektrizitätsmenge, die während einer Chronaxie hindurchgeht, d. h. $2\,I\,\tau$, ist daher von ungefähr 0,0006 Mikrocoulomb.

Wir hätten also ein ballistisches Galvanometer von einer derartigen Empfindlichkeit verwenden müssen, daß einem Ausschlag von 1 mm mehr als ein zehntausendstel Mikrocoulomb entsprochen hätte. Da unseres Wissens ein so empfindliches Galvanometer nicht auf dem Markt ist (der empfindlichste ballistische Apparat gibt für 1 mm 0,0004 Mikrocoulomb), mußten wir von dieser Technik absehen, welche die genaueste Anwendung des auseinandergesetzten logischen Prinzips darstellt.

Der Apparat, dessen wir uns schließlich bedienten, ein Galvanometer Desprez-d'Arsonval ballistischer Funktion mit einem Spiegel, dessen Krümmung einem Radius von 1 m entspricht, gab uns praktisch eine Spotverschiebung von 1 mm für 0,015 Mikrocoulomb.

Wir wählten für die Stromdauer die Zeit von $^1/_{10}$ Sekunde, da wir im Laufe der Messung der Rheobase mit Hilfe eines manuellen Schnellschalters festgestellt hatten, daß eine Stromdauer dieser Ordnung den Nerven nicht verletzt. Kurz zusammengefaßt gingen wir also folgendermaßen vor: Nach Bestimmung der rheobasischen Spannung und während der der Nerv noch im Stromkreis liegt, leiten wir den Strom $^1/_{10}$ Sekunde in das Galvanometer (Messung durch das Chronaximeter von L. Lapicque) und wir notieren den maximalen Ausschlag des Spot. Wir bestimmen hierauf die Chronaxie und kontrollieren den Zustand der rheobasischen Spannung. Durch eine einfache Verschiebung des Stromkreises schalten wir dann das Nervenpräparat aus, setzen an seine Stelle die geeichte Widerstandsröhre, und unter der Wirkung der rheobasischen Spannung von $^1/_{10}$ Sekunde suchen wir den Widerstand, der uns denselben Ausschlag gibt wie vorher. (Dieser Ausschlag, der für einen Nerven unter guten physiologischen Bedingungen ungefähr 6 mm beträgt, ist daher leicht feststellbar.)

b) Über einige theoretische Einwände, die man gegen diese Technik der Nervenwiderstandsmessung erheben könnte.

Wir müssen vor allem auf die folgenden zwei Einwände eingehen: Erstens wäre der Widerstand, den man mit Hilfe einer Welle von der Dauer von $^1/_{10}$ Sekunde mißt, nicht ganz genau derselbe wie der, den man nach einer Stromdauer von $^3/_{10\,000}$ Sekunden erhält. Das bekannte Fleischlsche Phänomen zeigt uns tatsächlich, daß kurze und intensive Wellen viel besser durch einen Nerven hindurchgehen als längere und schwächere. L. Lapicque hat übrigens anderen Orts [23] gezeigt, daß die Elektrizitätsmenge um 12% größer ist, wenn man an Stelle einer Spannung von 1 und einer Dauer von 1 eine Spannung von 4 und eine Dauer von $^1/_4$ wirken läßt.

Auf diesen Einwand, dem wir, wie wir es schon gezeigt haben, leider nicht entgehen können, können wir nur die folgende Antwort geben: Da es uns unmöglich war, die genauen Versuchsbedingungen der Chronaxiemessung einzuhalten, waren wir gezwungen, uns auf den Standpunkt der Rheobasenmessung zu stellen, was übrigens vom physiologischen Standpunkt aus ganz einwandfrei ist.

Der zweite Einwand, den man uns machen könnte wäre der, daß der Widerstand, den wir durch unsere Technik messen, nicht ausschließlich den Ohmschen Widerstand des Nerven darstellt.

Es ist bekannt, daß der Widerstand eines lebenden Gewebes nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ von der Frequenz des elektrischen Stromes abhängt. Die Arbeiten von Höber und besonders die von Philippson haben uns gezeigt, daß man mit der Hochfrequenz vor allem den spezifisch Ohmschen (relativ schwachen) Widerstand des Cytoplasmas mißt, und daß dieser Widerstand von dem

---

[23] Lapicque, L.: „L'excitabilité en fonction du temps." Presses Universitaires, S. 118, Paris 1926.

Inhalt des Cytoplasmas an mineralischen Elektrolyten oder an ionisierten Proteinen abhängt. Was die niedrige Frequenz anbelangt, so setzt sich der Widerstand, der sehr groß ist, vor allem aus dem Polarisationswiderstand der Zellmembranen, aus ihrem eigentlichen Widerstand und aus dem Widerstand des Zellcytoplasmas zusammen. Es handelt sich hier um den Widerstand, der ein Maß für die Permeabilität der Zellmembran darstellt, und der ihren physiologischen Zustand charakterisiert[24].

In unserem Falle handelt es sich natürlich um diesen zweiten, den totalen Widerstand, aber man muß dazu noch die instrumentalen Widerstände (der unpolarisierbaren Elektroden) und die mechanischen Widerstände (am Kontakte zwischen dem Nerven und den Elektroden) hinzufügen. Wir werden im folgenden die nötigen Vorsichtsmaßregeln angeben, um zu große Verschiebungen des Nerven auf den Elektroden zu vermeiden und somit diese Widerstände als konstant ansehen zu können.

Diese Erwägungen sind von äußerster Wichtigkeit im Falle der Messung des absoluten Wertes des Nervenwiderstandes; da aber unser Ziel einzig der Vergleich des Gewebewiderstandes vor und nach einer mehr oder weniger langen Wirkung gewisser chemischer Substanzen war, können wir diesen systematischen Fehlern oder Fehlermöglichkeiten eine ganz untergeordnete Bedeutung beimessen.

B. Messungstechnik der Rheobase, der Chronaxie und des elektrischen Widerstandes eines Nerven im normalen Zustande und unter der Wirkung von Medikamenten[25].

a) Anwendung des Präzisionschronaximeters von L. Lapicque.

Man kann bekanntlich die Durchströmungszeit entweder durch Kondensatoren oder durch Rheotome regeln. Die große Mehrzahl der Autoren benutzt zum Studium des Froschnerven die Kondensatoren, weil sie weniger zerbrechlich und leichter zu handhaben sind. Bis zu unseren letzten Untersuchungen sind wir auf dieselbe Art vorgegangen.

Da wir aber die Energieausgaben für die Nervenreizung ausdrücken wollten, zogen wir es in den allerletzten Jahren der Einfachheit halber vor, die Reizung durch rechteckig (senkrecht) kommende Wellen auszulösen. Wir benutzten daher ein Rheotom, in unserem Falle das neueste Präzisionschronaximeter von L. Lapicque[26]. Dieser Apparat, dessen Beschreibung wir später geben, erlaubt es, die Durchströmungszeit mit großer Genauigkeit von $^1/_{10}$—$^1/_{100\,000}$ Sekunde zu messen. Wir konnten ihn daher sowohl zur Messung der Chronaxie (durchschnittlich $^3/_{10\,000}$ Sekunden) als auch zur Messung des Widerstandes (Durchströmungszeit $^1/_{10}$ Sekunde) verwenden.

b) Berechnung der Intensität als Funktion der Spannung und des Widerstandes.

Im großen und ganzen geht man mit dem Chronaximeter in derselben Art vor wie mit den Kondensatoren. Aber man benutzt noch außer dem Entladungskreis einen Widerstand von 2000 Ohm, der direkt auf den Apparat montiert ist, um einem

---

[24] Siehe Untersuchungen von Botazzi, Blinke, Waterman, Dubuisson, Kopaczewski, Osterhout usf. — [25] Alle Einzelheiten betreffend die Definition und die Technik der Messung der Erregbarkeitsparameter mit Hilfe von Kondensatoren finden sich in L. Lapicque: „L'excitabilité en fonction du temps" 1 vol. de 371 p. Presses Universitaires de France. Paris 1926; Laugier, H.: „Die Chronaxie; Methoden und Technik. Handb. d. biol. Arbeitsmethoden von Abderhalden, Abt. V, Teil 5A, S. 719 u. 816 Berlin u. Wien, Urban u. Schwarzenberg, 1929, sowie in der Doktoratsarbeit des einen von uns. S. Anm. 4, S. 49. — [26] Apparat konstruiert von der Firma Boulitte, Paris.

Kurzschluß der Elektrizitätsquelle vorzubeugen. Man besitzt auf diese Weise im Anschluß an den Herabsetzer des Potentials einen Reizungsstromkreis, den man durch das folgende Schema darstellen kann (Abb. 1):

Untersuchen wir zuerst, auf welche Weise man die Intensität des Stromes berechnet, der durch den Nerven geht als Funktion des Widerstandes des Präparates und der Spannung, die man an der Ausgangsschaltung des Potentiometers legt[27].

V ist die Potentialdifferenz zwischen A und B, gegeben durch das Voltmeter des Reduktors. I, i' und i bezeichnen die Intensitäten des Stromes, der zwischen den Armen AC und DB, CD, CRD zirkuliert. Da die Widerstände in Tausenden

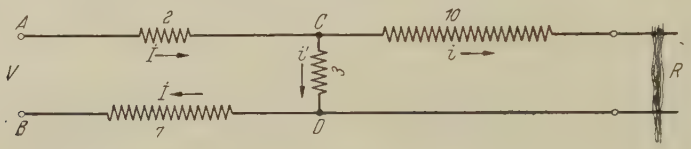


Abb. 1.

von Ohm ausgedrückt sind, erhält man einen Sicherheitswiderstand des Chronaximeters gleich 2 und die Widerstände des Shunt gleich 7, 3, 10. R ist der Widerstand des Präparates.

Der Widerstand des Leiters, der die verschiedenen Apparate miteinander verbindet, ist vernachlässigt, ebenso wie der des Galvanometers, der von ungefähr 100 Ohm ist, und der nicht eingezeichnet ist.

Wir wissen, daß $I = i + i'$. Das zweite Kirchoffsche Gesetz: $\Sigma(e - ri) = o$ gibt uns für den Stromkreis $ACDB$: $9\,I + 3\,i' = V$ und für das Glied $CRDC$: $i\,(10 + R) - 3\,i' = 0$.

Die Ausscheidung von I und von i' zwischen den drei Beziehungen gibt: $i\,(49 + 4\,R) - V = 0$ und daraus

$$i = \frac{V}{49 + 4\,R}.$$

Da V in Volt und die Widerstände in Tausenden von Ohm ausgedrückt sind, ist die Intensität i in Milliampere ausgedrückt.

c) Schema der Montierung und Beschreibung der Apparate.

Außer dem klassischen Instrument von L. Lapicque enthält unsere Montierung ein ballistisches Galvanometer, eine geeichte Widerstandskiste und einen doppelten monopolaren Umschalter, der es gestattet, erstens an die Stelle des Präparates die Widerstandskiste zu setzen und zweitens während der Chronaxiemessung das Galvanometer auszuschalten.

Das letztere ist notwendig, wenn man im Laufe einer Chronaxiemessung für sehr kurze Durchgangszeiten jede Ursache einer Stromverzögerung vermeiden will, z. B. eine Verwicklung von Drähten, die Selbstinduktionsphänomene auslösen kann. Da das Galvanometer einen beweglichen Rahmen besitzt, ist zu befürchten, daß die Umwicklung des Rahmens die Erregungswelle entstellt und verzögert. Die Elektrizitätsquelle besteht aus drei oder vier Bleiakkumulatoren von je 4 Volt. Der Potentialverkleinerer erlaubt eine Herabsetzung der Spannung bis auf $^1/_{200}$.

[27] Man kann diese Intensität durch eine vorhergehende Eichung des Galvanometers kennenlernen. Die Annäherung ist dann von ungefähr $^1/_{20}$ Mikroamp. (Spotverschiebung $^1/_4$ mm). Wir haben es vorgezogen, sie zu berechnen, nachdem wir den Widerstand experimentell festgestellt hatten, denn wir vermeiden auf diese Weise eventuelle Fehler, die von Veränderungen des Galvanometers herrühren können (Temperatur, hygroskopischer Zustand, zufällige Verschiebung des Lineals usw.).

Die Ausgangspotentialdifferenz mißt man mit Hilfe eines Voltmeters, das zwei Register besitzt. Das eine von 0 bis 2 Volt erlaubt es, die $^1/_{100}$ Volt und das andere von 0 bis 20 Volt die $^1/_{10}$ Volt zu bestimmen.

Um im Laufe der Chronaxiemessung die rheobasische Spannung zu verdoppeln, kann man entweder die Zahl verdoppeln, die die beiden Rheostaten (einer in $^1/_{20}$ und einer in $^1/_{200}$ der Originalspannung graduiert) anzeigen, oder man kann, um Irrtümer zu vermeiden, den automatischen Verdoppelungskasten von L. Lapicque anwenden.

Dieser Apparat besteht aus einem einfachen Karborundumstäbchen, dessen Ende von Metall umgeben ist, und dessen Widerstand dem des Potentialverkleinerers gleich ist. Ein einfacher Schalter erlaubt es den Strom entweder durch die beiden Widerstände oder durch das Potentiometer allein zu senden. Im letzteren Falle ist die Ausgangsspannung verdoppelt[28].

Das Präzisionschronaximeter von L. Lapicque[29] erlaubt es mit Hilfe eines Nonius $^1/_{100\,000}$ Sekunde abzulesen. Es funktioniert anders als die vorhergehenden

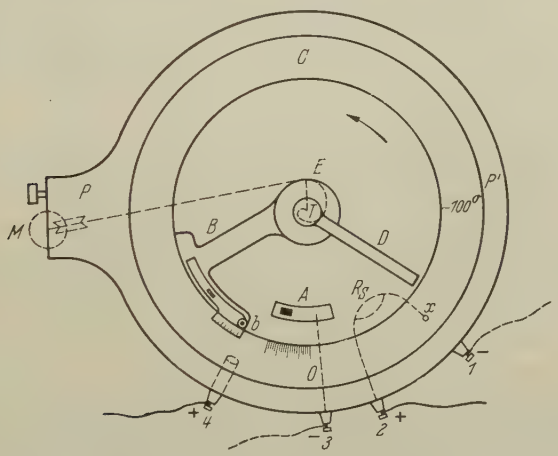


Abb. 2a. Schema des Präzisionschronaximeters von L. Lapicque.

Modelle. Anstatt die Durchströmung auf dem Wege einer Schließung und einer Öffnung des Reizungskreises zu ermöglichen, erlaubt es die Durchströmung durch die Öffnung eines ersten Stromkreises, durch den die Elektrizitätsquelle in einem Sicherheitswiderstand geschlossen wird. Auf diese Weise wird das Rheotom um vieles präziser.

Dieser relativ neue Apparat bedeutet gegenüber dem klinischen Chronaximeter einen beträchtlichen Fortschritt. Wir werden ihn, von der Beschreibung des klinischen Chronaximeters von L. Lapicque ausgehend, in allen Einzelheiten untersuchen.

Eine runde Gußeisenplatte PP' von ungefähr 25 cm Durchmesser trägt mit Hilfe von isolierenden Unterteilen einen Ring, der in $^1/_{1000}$ und $^1/_{10\,000}$ Sekunden eingeteilt ist.

Gegenüber von o ist ein elektrischer Schalter A unverrückbar befestigt. Ein anderer Schalter B, der von einem Radialarm getragen ist, kann längs des Ringes

---

[28] Dieser Apparat ist von der Firma Boulitte in Paris hergestellt. Man findet seine Beschreibung im Buche „L'excitabilité en fonction du temps" von L. Lapicque. — [29] Hersteller Boulitte, Paris.

bewegt und durch die Schraube b beliebig fixiert werden. Dieser bewegliche Schalter trägt den Nonius, der die Ablesung der $^1/_{100\,000}$ Sekunden gestattet. Auf der Spitze T einer vertikalen Achse, die durch den Mittelpunkt der Platte hindurchgeht, ist eine starke Stahlnadel D befestigt. Diese Achse trägt unterhalb der Platte die Rolle E, die die Form eines sich vergrößernden Kreisausschnittes hat, und in deren Rinne sich ein solider und unausdehnbarer Draht befindet, der über dem Wege einer zweiten Rolle das Gewicht M trägt. Wenn dieses Gewicht sich mit einer konstanten Geschwindigkeit senken würde, dann würde es wegen der Form der Rolle E die Achse und die Nadel mit einer beschleunigten Geschwindigkeit drehen. Da es aber der Schwerkraft ausgesetzt ist, senkt es sich mit einer beschleunigten Geschwindigkeit und die Addition der beiden Beschleunigungen gibt der Nadelspitze nach einer Drehung eine lineare Geschwindigkeit von ungefähr 10 m pro Sekunde, d. h. sie durchläuft 1 σ in einem Bogen von ungefähr 1 cm Länge.

Die Schalter A und B sind derart gebaut, daß die Nadel D, über sie hinweggehend, auf einen exzentrischen Vorsprung stößt, der eine flache Feder in Krümmung hält. Durch diese Bewegung senkt sich im beweglichen Schalter B die Feder, die den graduierten Ring mit der Masse in Verbindung setzt, und der Ring ist ausgeschaltet. Die Feder im Schalter A, die ebenfalls mit der Masse in Verbindung ist, verläßt den Vorsprung a und unterbricht den Strom. Der Stromkreis ist also in beiden Fällen geöffnet.

Abb. 2b.

Der Strom gelangt also an das Präparat während der Zeit, die die Nadel benötigt, um von einem Schalter zum anderen zu gelangen.

Funktionsbeschreibung.

Stellen wir uns den Apparat funktionsbereit vor; die beiden Vorsprünge sind erhoben, der Strom tritt durch die Grenzschaltung 2 (+) ein, geht zum Sicherheitswiderstand RS, und kommt hierauf durch die Grenzschaltung x in den graduierten Ring. Von hier aus gelangt er in den Unterbrecher B durch die Schraube b, die

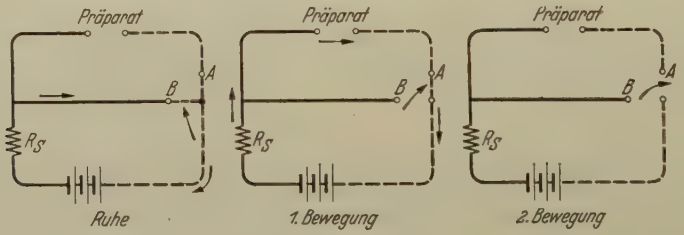


Abb. 3.

eine Schaltung an die Masse herstellt. Er verläßt den Apparat durch die Grenzschaltung 1 (−). Wir stellen so den sogenannten „kleinen Stromkreis" her, in welchem sich kein Präparat befindet und den uns das obige Schema anschaulich macht (Abb. 3).

1. Bewegung. Die befreite Nadel D prellt gegen den Vorsprung von B, die Feder senkt sich und unterbricht den kleinen Stromkreis. Der Strom geht durch die Grenzschaltung 4 (+), gelangt an das Präparat und kehrt an die Masse zurück

durch die Grenzschaltung 3 (−), die durch einen Draht mit dem Unterbrecher A verbunden ist, dessen Vorsprung noch erhoben ist. Durch die Grenzschaltung 1 (−) kehrt er endlich an die Quelle zurück. Dies ist der „große Stromkreis", der durch das Präparat hindurchgeht. Es handelt sich hier um die Reizungszeit.

2. Bewegung. Seinen Weg verfolgend, senkt die Nadel D den Vorsprung des Unterbrechers A; die Feder verläßt den Schalter a; der Stromkreis ist unterbrochen.

Um den Apparat funktionsbereit zu machen, ist folgendes erforderlich:

1. Nachdem man die beiden Vorsprünge gesenkt hat, dreht man die Nadel der Funktionsrichtung entgegengesetzt. In einem gegebenen Punkte greift die Rolle E in den Haken g und die Nadel nimmt ihre Ausgangsstellung ein.

2. Man muß die beiden Vorsprünge aufheben; man darf hier nicht vergessen, B (der den kleinen Stromkreis wiederherstellt) vor A (der den Nerven in den Stromkreis bringt) aufzuheben.

Das einfachste Mittel, den Nullpunkt (den man von Zeit zu Zeit kontrollieren muß) des Chronaximeters zu bestimmen, ist das Folgende: Man schaltet einen Reizer an die Grenzschaltungen 3 und 4 (d. h. an die des Präparates) und eine Batterie von 60 Volt an die beiden anderen.

Man erhält eine erste ungenaue Regulierung, indem man dem beweglichen Vorsprung einen derartigen Platz gibt, daß der drehende Arm ihn ungefähr im selben Moment berührt wie den unbeweglichen Vorsprung. Man macht das Chronaximeter funktionsbereit, berührt die Zunge mit den beiden Spitzen des Reizers und bewegt den Auslösungsknopf, der natürlich durch einen Gummiring gut isoliert ist. Falls man den Strom spürt, rückt man den beweglichen Vorsprung solange zurück, bis man nichts mehr spürt. Der Apparat ist auf Null eingestellt, wenn das geringste Vorrücken des beweglichen Vorsprungs von neuem die Stromempfindung auf der Zunge hervorruft. Es empfiehlt sich zur größeren Sicherheit den Knopf, der den Fall des Gewichts auslöst, einem Assistenten anzuvertrauen.

Man könnte ebenfalls das Galvanometer anwenden, falls man damit genügend vorsichtig umgeht.

Wir haben den Shunt von L. Lapicque[30] benutzt. Er bietet serienweise 7000 Ohm im Hauptstromkreis und 10000 Ohm im Stromkreis des Präparates, das durch 3000 Ohm shuntiert ist. Die drei Widerstände sind in einer einzigen Schachtel vereinigt und können mit Hilfe von Steckern nach Belieben verwendet werden.

Der doppelte monopolare Umschalter besteht aus Kupferschneiden, die auf einer Ebonitplatte befestigt sind.

Unser Galvanometer mit beweglichem Rahmen, dessen Skala (Ampere pro mm) sich im Mittelpunkt der Spiegelkrümmung befindet, hat eine Empfindlichkeit von 31×10^{-10}. Seine einfache Oszillationsdauer ist 6,4 Sekunden. Nach unseren Angaben installiert ergibt es im Gebrauch ballistisch einen Ausschlag von 6 mm für einen Strom von 1 Mikroamp. und von $^1/_{10}$ Sekunde Dauer.

Die Widerstandsröhre besteht aus einer Steckschachtel, deren Skala, von 1000 auf 1000 Ohm graduiert, von 0 bis 200000 Ohm geht. Diese Annäherung, die vollkommen genügend ist für die Größe der Variationen auf die es ankommt, erlaubt es ebenfalls, die Ausschläge für schwache Intensitäten zu bestimmen. Sie scheint auch noch für die Änderungen des Widerstandes an den Kontakten, die von den unvermeidlichen Verschiebungen des Nerven auf den Elektroden herrühren, zu gelten. Die Widerstände der Schachtel bestehen aus Spulen mit doppeltem Draht, um jede Stromverzögerung durch Selbstinduktion zu vermeiden.

Die Reizungskammer, nach einer Beschreibung von H. Laugier[31] hergestellt, besteht aus einer Mischung von Wachs (1 Teil) und Paraffin (4 Teile). Sie besitzt

---

[30] Hersteller Boulitte, Paris. — [31] Laugier, H.: C. r. Soc. Biol. **85**, 323 (1921).

zwei Abteilungen, eine für den Muskel und die andere für den Nerven. Die letztere enthält die Elektroden sowie einen Ausflußschlauch aus Kautschuk. Die negative Elektrode liegt auf der dem Muskel zugewendeten Seite, und ihr Strom ist abwärts gerichtet, damit der Nervenstrom nicht durch einen Teil hindurchgeht, der anodisch polarisiert ist. Die Auffüllung der Nervenküvette mit physiologischer oder medikamentöser Lösung geschieht mit einer Waschflasche, indem man eine direkte Berührung des Nerven vermeidet.

Nach Auffüllung der Kammer mit physiologischer oder medikamentöser Lösung bedeckt man sie gänzlich mit einer Glasplatte mit geschliffenen Rändern. Der Abstand zwischen den Elektroden ist ungefähr 20 mm. Die Elektroden bestehen aus Silberdrähten von 0,5 mm Durchmesser, die durch eine elektrolytische Chlorierung unpolarisierbar gemacht worden sind.

Diese Chlorierung erhält man auf folgende Weise: Man bringt die beiden Elektroden in Berührung mit dem positiven Pol eines Akkumulators von 10 Volt. Der negative Pol ist mit einer diffusen Elektrode verbunden, die sich auf dem unteren Teil der Zelle befindet. Man füllt dieselbe mit einer gesättigten Kochsalzlösung, läßt den Strom 10 Minuten lang hindurchgehen und spült ausgiebig. Da das AgCl vom Licht reduziert wird, muß man diese „Unpolarisierung" häufig wiederholen.

Trotz dieser Vorsichtsmaßregeln sind die Elektroden nicht absolut identisch und können nicht vollkommen unpolarisierbar gemacht werden. Man kann daher beim Vorhandensein einer physiologischen Flüssigkeit einen geringen Ausschlag des Spot feststellen, wenn man die Reizungskammer und das Galvanometer in den Stromkreis einschaltet. Da das Paraffin, der Grundstoff unserer Reizungskammer, nach der Beseitigung der Flüssigkeit, nicht benetzt ist, ist die Intensität des Polarisationsstromes, der in das Präparat gelangt, äußerst schwach. Man kann ihn auf etwa $^5/_{1000}$ Mikroamp. abschätzen.

Um diesen Einfluß zu berücksichtigen, haben wir als den Nullpunkt des Lineals nicht den absoluten Nullpunkt, sondern den Stabilisierungspunkt des Lichtpfeiles, wenn die Reizungskammer und das Galvanometer eingeschaltet sind, angenommen[32].

Der Potentialverkleinerer und das Chronaximeter befinden sich auf einem soliden Tisch, das Galvanometer und die Reizungskammer auf einem Strohkissen. Die Vibrationen des Chronaximeters stören auf diese Weise weder das Galvanometer, das außerdem auf Kautschukpfropfen sitzt, noch das Präparat.

Alle Verbindungen sind gemäß den Empfehlungen von L. Lapicque aus geraden und isolierten Kupferdrähten hergestellt.

d) Beschreibung der verschiedenen Vorgänge (siehe Abb. 4).

Man kontrolliert vor Beginn jeder Untersuchung die Schaltungen des Akkumulators sowie alle Verbindungen des Stromkreises.

α) Bestimmung der Rheobase. 1. Man setzt im Umschalter α auf β und δ auf ε. Das Präparat und das Galvanometer befinden sich auf diese Weise in dem Stromkreis[33].

[32] Wir versuchten sogar — aber in Anbetracht der Geringfügigkeit dieser Fehlerquelle haben wir diese Versuche nicht fortgesetzt — diesen Ausschlag durch einen Gegenstrom gleichen Wertes zu neutralisieren. Dies ist mit Hilfe einer Leclanche-Batterie und einem Rheostat, der einige Megohm in Serie enthält, möglich. Man könnte sich dieses Verfahrens erinnern, falls man es mit einem noch empfindlicheren Galvanometer zu tun hat. — [33] Die Einschaltung des Galvanometers in den Stromkreis vom Beginn des Versuches an ist äußerst wertvoll, da man damit den Zustand des Stromkreises und den seiner Verzweigungen feststellen kann. Es kommt manchmal vor (Riß der Chronaximeterschnur oder ein anderer Unfall, der eine rasche Reparatur erfordert), daß man die Grenzschalter verwechselt oder eine schlechte Verbindung herstellt. In diesen Fällen zeigt das Galvanometer entweder einen Ausschlag im entgegengesetzten Sinne oder nur einen geringen oder gar keinen Ausschlag.

2. Man legt die beiden Vorsprünge des Chronaximeters um, macht ihn funktionsbereit und hebt die Vorsprünge auf, indem man mit dem beweglichen Vorsprung, dessen Nullpunkt vorher gegenüber der Graduierung 100 ($^1/_{10}$ Sekunde) gebracht worden ist, beginnt.

3. Man schaltet den Strom mit Hilfe des Steckkontaktes ein.

4. Von einer schwachen Spannung ausgehend sucht man die rheobasische Spannung, indem man mit der Hand den beweglichen Vorsprung rasch manövriert, wobei man es vermeidet, den graduierten Ring zu berühren.

5. Nachdem man die rheobasische Spannung festgestellt hat und der Nullpunkt des Lineals sich auf dem Stabilisierungspunkte des Spot befindet, läßt man dem Gewicht des Chronaximeters freien Lauf.

6. Man notiert hierauf die maximale Spotverschiebung sowie die Spannung V.

β) Bestimmung der Chronaxie. 1. Man setzt im Umschalter α auf γ und δ auf ε. Der Nerv ist allein im Spiele; das Galvanometer ist ausgeschaltet.

2. Man hebt die Vorsprünge des Chronaximeters wie vorher auf, macht ihn funktionsbereit und setzt den Nullpunkt des beweglichen Vorsprunges in die Nähe der Graduierung 0.

3. Man verdoppelt die Spannung.

4. Man macht das Chronaximeter funktionsbereit, setzt es in Bewegung und vergrößert vorsichtig mit Hilfe eines speziellen Hebels den Abstand zwischen den beiden Vorsprüngen.

5. Nachdem man den Schwellenwert erhalten hat, notiert man in σ die Chronaxie.

γ) Überprüfung der Rheobase. 1. Man beginnt mit einer Spannung, die etwas unterhalb der gefundenen rheobasischen Spannung liegt, um sie dann zu steigern.

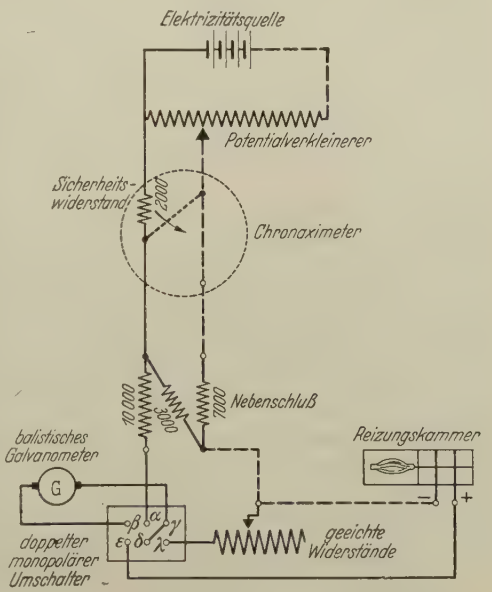


Abb. 4. Montierungsschema.

2. Man setzt den Nullpunkt des beweglichen Vorsprungs gegenüber der Graduierung 100, macht das Chronaximeter funktionsbereit und hebt die Vorsprünge auf.

3. Indem man wie vorher (α, 4°) den beweglichen Vorsprung manöveriert, überprüft man, ob die rheobasische Spannung annähernd dieselbe ist.

δ) Bestimmung des Widerstandes des Präparates. 1. Man setzt im Umschalter α auf β und δ auf λ. Das Galvanometer und der Widerstandskasten sind eingeschaltet.

2. Man überprüft, ob der Nullpunkt des beweglichen Vorsprungs sich an der Graduierung 100 befindet.

3. Man sucht mit der rheobasischen Spannung den Widerstand, der denselben maximalen Ausschlag gibt, wie der, den man für eine Stromdauer von $^1/_{10}$ Sekunde im Laufe der Rheobasenmessung festgestellt hat. Man notiert diesen Widerstand R.

4. Man entfernt den Stecker, der die Elektrizitätsquelle ausschaltet, man macht das Chronaximeter funktionsbereit und hebt die Vorsprünge auf.

ε) Berechnung der rheobasischen Intensität. Im Besitz von R in Tausenden von Ohm und von V in Volt erhält man durch die oben erklärte Formel $i = \frac{V}{49 + 4R}$, i in Milliampere, oder was einfacher ist in Mikroampere[34].

C. Ausdruck der Reizfähigkeit des Nerven — unter unseren Versuchsbedingungen — durch die energetische Formel nach H. Lassalle und L. Lapicque.

Es ist nicht unsere Absicht, hier von neuem auf den Wert der Chronaxie von L. Lapicque für die Charakterisierung des Zustandes eines erregbaren Organs oder einer erregbaren Zelle einzugehen. Es unterliegt keinem Zweifel, daß diese Messung, die von den äußeren experimentellen Bedingungen besonders unabhängig ist, von Fall zu Fall an Bedeutung gewinnen muß. Die Dienste, die sie bereits jetzt im Laboratorium und in der Praxis leistet, können ohne Übertreibung als unschätzbar angesehen werden.

Nichtsdestoweniger müssen wir von neuem darauf hinweisen, daß die Chronaxie einen Zustand der Zelle ausdrückt, und zwar höchstwahrscheinlich physiko-chemischer Natur, und daß ihre Variationen eine Veränderung dieses Zustandes ausdrücken, ohne daß es uns jedoch erlaubt wäre, diesen Zustand der Reizfähigkeit gleichzusetzen.

Eine Überprüfung aller theoretischen Formeln, die die Gesetze der Reizung durch den galvanischen Strom auszudrücken versuchen[35] (Gesetz der energetischen Interpolation von L. Lapicque, Theorie von A. M. Monnier usw.), zeigt uns in der Tat, daß diejenigen, die den experimentellen Gegebenheiten am nächsten kommen, das folgende Phänomen erkennen lassen. Die Erregbarkeit eines gegebenen Gewebes ist durch zwei Faktoren bestimmt, erstens durch die Intensität des Stromes (oder durch die Spannung unter einem möglichst konstanten Widerstand), und zweitens durch die Durchströmungszeit, die für das erregbare Organ charakteristisch ist. Es ist das große Verdienst L. Lapicques die experimentelle Bestimmung dieser beiden Parameter durch zwei Messungen, deren jede einen Schwellenwert der Wirksamkeit des Gleichstromes darstellt, zu ermöglichen; es sind dies die Rheobase und die Chronaxie.

Es leuchtet daher ein, daß eine jede Erregbarkeitsformel, die den praktischen Anforderungen gerecht sein will, nicht allein die Chronaxie, sondern auch die Rheobase, d. h. nicht nur einen, sondern beide Parameter berücksichtigen muß.

Einige Versuche sind in diesem Sinne ausgeführt worden.

---

[34] Es ist möglich, diese Technik der Widerstandsbestimmung unter Verwendung von Kondensatoren anzuwenden. Man weiß, daß die Zeitkonstante der Entladung eines Kondensators der Kapazität C dem Produkt von XC gleich ist. Unter X versteht man den Gesamtwiderstand des Entladungskreises, der dank der Erfindung des Shunt durch L. Lapicque, äußerst konstant und von ungefähr 10000 Ohm ist, ohne jede Rücksicht auf den Widerstand des Präparates. Eine einfache Überlegung zeigt uns tatsächlich, daß im Falle der Kondensatormontierung, wo der Sicherheitswiderstand von 2000 Ohm fehlt, dieser Widerstand X durch die Formel $X = \frac{121 + 10R}{13 + R}$ ausgedrückt ist und daß die Entladungszeit im Nerven unter diesen Umständen eine Funktion der Kapazität ist. Man könnte z. B. die Rheobase mit 10 Mikrofarad bestimmen und dann mit derselben Ladungsspannung und mit derselben Kapazität den Widerstand suchen, der denselben Spotausschlag gibt. Sobald man den Widerstand des Präparates kennt, ist es leicht, den Bruchteil der Gesamtenergie der Schwellenentladung, die im experimentellen Nervenabschnitt verbraucht wird, zu berechnen. Er ist $^1/_2\, C\, (2\, V)^2$ oder anders gesagt $2\, C\, V^2$ (worin C die chronaxiale Kapazität und V die rheobasische Spannung sind). — [35] Siehe Doktorarbeit von A. Quevauviller, s. Anm. 20, S. 51.

Ozorio de Almeida[36] hat 1927 im Anschluß an seine Erregungstheorie gezeigt, daß die „Nutzzeit" 3,23 Chronaxien gleich ist. Er hat daher zur Charakterisierung des Erregbarkeitszustandes eines Gewebes das Verhältnis $\frac{\text{Rheobase}}{\text{Nutzzeit}}$ oder $\frac{\text{Rheobase}}{\text{3,23 Chronaxien}}$ vorgeschlagen und dieses Verhältnis die Chronobase genannt. Als er aber 1931[37] seine Theorie modifiziert hatte, nahm er für die Nutzzeit 6,72 Chronaxien an und erwähnte die Chronobase nicht mehr, die in diesem Falle $\frac{\text{Rheobase}}{\text{6,72 Chronaxien}}$ geworden wäre. Renqvist und Hirvonen[38] glaubten die Unstimmigkeiten zwischen dem Gesetz von Hoorweg-Weiss: $Q = \alpha + \beta t$ und den experimentellen Gegebenheiten für kurze Zeiten einer experimentellen Fehlerquelle zuschreiben zu können und schlugen 1932 zur Definition der Erregbarkeit den Faktor α vor, der eine Elektrizitätsmenge, die dem Produkt aus der Chronaxie und der Rheobase entspricht, darstellt. (Man kann in der Tat, da $i = \frac{\alpha}{t} + \beta$, $t = \tau$ (Chronaxie) und R = Rheobase sind, $2R = \frac{\alpha}{\tau} + R$ und daraus $\alpha = R\tau$ formulieren.)

Man weiß aber seit H. Cardot und H. Laugier[39], daß die Chronaxie und die Rheobase sich meistens im entgegengesetzten Sinne ändern und man weiß sogar seit Ph. Fabre[40], daß der Elektrotonus, der das Produkt aus Rheobase und Chronaxie darstellt, annähernd konstant ist. Der Kathelektrotonus ist jedoch bekanntermaßen von einer Vergrößerung der Erregbarkeit begleitet, denn man stellt mit der Induktionsspule eine Senkung des Schwellenwertes fest, und der Anelektrotonus ruft eine Verminderung der Erregbarkeit hervor. Der Vorschlag von Renqvist und Hirvonen, dessen Prämissen äußerst zweifelhaft sind (obwohl das Gesetz von Hoorweg-Weiss durchaus richtig ist), kann daher nicht in Betracht gezogen werden.

Die Anschauung H. Lassalles[41] scheint uns die weitaus zutreffendste zu sein. Er berechnet die Erregbarkeit, d. h. „die mehr oder weniger große Fähigkeit eines Objektes auf dynamogene Reize zu reagieren", aus dem umgekehrten Wert der Energie, die man zur Auslösung der Erregung benötigt. Er gelangt auf diese Weise zur Formel $E = \frac{1}{V^2 \tau}$ in der V die rheobasische Spannung und τ die Chronaxie darstellen.

L. Lapicque[42] war der Meinung, daß der Erregbarkeitsbegriff von H. Lassalle genaue und wertvolle Resultate unter folgenden Bedingungen geben könne: Man müsse in der Weise vorgehen, daß die Intensitätsmessungen so unabhängig als möglich von den Versuchsbedingungen wären[43], d. h. einerseits so ähnlich als

---

[36] Ozorio de Almeida: Ann. Physiol. (Fr.) **3**, 129 (1927). — [37] Ozorio de Almeida: Ebenda **7**, 109 (1931). — [38] Renqvist, Hirvonen, Uotila: Skand. Arch. Physiol. **65**, 60 (1932) — [39] Cardot, H., u. H. Laugier: C. r. Soc. Biol. **76**, 249 (1914). — [40] Fabre, Ph.: Ebenda **109**, 942 (1932). — [41] Lassalle, H.: C. r. Soc. Biol. **98**, 273 (1928). — [42] Lapicque, L.: Scientia **52**, Nr. 264-10, 1932, S. 282; Cours de Physiologie **4**, 138, Paris 1935. C. D. U. — [43] Man darf nicht vergessen, daß man in diesen Begriff die Rheobase eingeführt hat, deren unvermeidliche Ungenauigkeiten davon herrühren, daß das wichtigste Element der Reizung nicht so sehr in der Intensität, als vielmehr in der Dichte des Stromes, der an das erregbare Objekt gelangt, zu suchen ist. Da es unmöglich ist, diese Dichte zu bestimmen, ist es unbedingt notwendig, daß sowohl sie selbst als auch die erregbare Oberfläche unverändert bleiben. Es wird uns daher z. B. nicht erlaubt sein, die Erregbarkeit eines Gewebes (Nerv) mit der eines anderen (Muskel)

mögliche Durchströmungszeiten anwenden, damit die Variationsfaktoren sich auf dieselbe Weise bemerkbar machen und andererseits genügend kleine Zeiten, um in diese Zone zu gelangen, wo die Energie (trotz der Veränderung der Schwellenintensität gemäß der Stromdauer) als für jeden Reiz genügend konstant betrachtet werden konnte.

Wenden wir uns von neuem der von H. Lassalle vorgeschlagenen Formel zu, dann müssen wir feststellen, daß sie eine Umkehrung des Elektrizitätsverbrauches im ganzen Reizungskreis (dessen Widerstand annähernd konstant ist) darstellt[44].

Die vom Präparat im Falle der galvanischen Reizung (die wegen des Chronaximeters die unsrige ist) wirklich verbrauchte elektrische Energie aber ist durch die Formel $Ri^2\,t$ ausgedrückt, in der R den Widerstand des Nerventeiles, i die Intensität des Stromes und t die Durchströmungszeit darstellen.

Wir wissen es aber, und wir werden später die Gelegenheit haben es zu beweisen, daß man unter dem Einfluß gewisser Gifte sehr häufig tiefgreifende Veränderungen des Widerstandes beobachtet. Wir waren daher gezwungen uns nicht der rheobasischen Spannung, sondern der rheobasischen Intensität I und des Widerstandes R des Nerven zu bedienen. Wenn man andererseits den Energieverbrauch in dem Moment, in dem die Intensität das Doppelte der Rheobase ausmacht, in Betracht zieht, dann definiert die Zeit t die Chronaxie τ und wir haben schließlich als Ausdruck der Erregbarkeit die folgende Formel angenommen:

$$\frac{1}{R\,(2\,I)^2\,\tau}\,.$$

D. Genaue Angaben betreffend die Messung der Erregbarkeitsparameter, die Berechnung dieses Wertes mit Hilfe der gewählten Formel und den Vergleich der Wirkung der Lokalanaesthetica.

Diese drei Punkte sind in der Dissertation des einen von uns[20] ganz ausführlich besprochen worden. Wir führen hier nur kurz die folgenden Beobachtungen an:

1. Für die Versuche, bei denen die Messung der Chronaxie keine direkt verwendbaren Resultate gegeben hat (z. B. wie wir es bald bei dem Vergleich der Wirksamkeit des salzsauren Cocains mit der des Percains zeigen werden), haben wir die Erregbarkeit nach der energetischen Formel von H. Lassalle und L. Lapicque berechnet.

Als wir aber die Veränderungen dieses Wertes näher betrachteten, fanden wir nicht mehr die für die Chronaxie so charakteristische phasische Entwicklung (was

---

zu vergleichen, und die einzig erlaubten Fälle werden sich dort vorfinden, wo „man auf ein erregbares Präparat eine physische oder pharmakodynamische Wirkung ausüben kann, ohne das Geringste an den Versuchsanordnungen zu ändern, denn die reelle Reizungsenergie für das erregbare Objekt ist dann höchstwahrscheinlich stets derselbe Teil der Gesamtenergie, die im Stromkreise verbraucht wird." Diese einfachen Überlegungen zeigen hinreichend von einem gewissen Standpunkt aus die Überlegenheit der Chronaxiemessung, denn dieser Parameter ist um vieles unabhängiger von den Versuchsbedingungen als die Rheobase, und er ist daher der einzige, der die obenerwähnten Vergleiche (Nerv, Muskelisochronismus, Nerven verschiedener Gattungen usw.) gestattet.

[44] Die H. Lassallesche Formel $1/V^2\,\tau$ hat mehreren Autoren [z. B. M. Nivet: C. r. Soc. Biol. **116**, 1013 (1934); Monnier u. Jasper: C. r. Acad. Sci. **194**, 2240 (1932)] wervolle Anhaltspunkte gegeben. Sie ist auch von P. K. Knoefel in der Arbeit, die wir erwähnt haben (s. Anm. 15), verwendet worden. Er drückt die Energie durch $^1/_2\,C\,V^2$ aus, da er Kondensatoren benutzt, und setzt den Widerstand des Nervengewebes als konstant voraus. Er übergeht dabei vollständig die Anschauungen von H. Lassalle und von L. Lapicque, deren Veröffentlichungen viel frühzeitiger als die seinigen erfolgt sind.

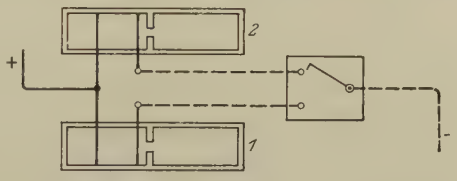
uns erlaubt hätte, ein Senkungsmaximum zu notieren). Wir stellten ausschließlich eine regelmäßige Senkung fest, die für schwache Dosen nach einem Gleichgewichtszustand und für starke Dosen zur Unerregbarkeit strebt. Um unter diesen Umständen die Konzentrationswirkungskurve (d. h. die Kurve der Konzentration und der Erregbarkeitssenkung) konstruieren zu können, waren wir gezwungen, eine gewisse Wirkungszeit zu wählen. Im Gegensatz zu W. Laubender und M. Saum haben wir uns wohl davor gehütet, sie zu groß zu wählen. Da wir von vornherein wußten, daß der Wiederaufstieg der Chronaxie und ganz besonders das Ende des reinen, direkt reversiblen Narkosezustandes eine äußerst wichtige Zustandsänderung im Innern des Nerven anzeigt, haben wir als Wirkungszeit 40 Minuten gewählt, in deren Verlauf für die mittleren Dosen der Lokalanaesthetica vom Cocaintypus diese Zustandsänderung auftritt.

2. Die Vergleichsversuche sind stets mit homogenen Tiergruppen ausgeführt worden, d. h. mit Tieren, die an demselben Orte und zur gleichen Zeit gefangen und unter denselben Bedingungen gehalten worden waren. Es ist bekannt, daß die Empfindlichkeit der Tiernerven für die lokale Anästhesie zum Beginn des Frühlings merklich größer ist als im Winter und im Herbst.

3. Wir haben darauf geachtet, für jeden Versuch möglichst viele Tiergruppen zu verwenden und für die Chronaxie und Erregbarkeitsmessungen eines jeden Körpers die Konzentrationswirkungskurve (d. h. die Kurve der „Konzentration —maximale Chronaxiesenkung" und die der „Konzentration—Senkung der Erregbarkeit nach 40 Minuten") mit wenigsten drei (3) Punkten, deren jeder einen Durchschnitt von wenigstens vier Versuchen darstellt, zu konstruieren.

4. Wir wollten ferner (im Laufe des Vergleichs der Wirkung eines Lokalanaestheticums mit der des salzsauren Cocains, das wir als Typus gewählt hatten) zur Konstruktion der beiden Konzentrationswirkungskurven nicht nur dieselbe Tiergruppe und möglichst zahlreiche Tiere verwenden, sondern auch die zwei verschiedenen Versuche zu gleicher Zeit ausführen. Zu diesem Zwecke untersuchten wir zu gleicher Zeit die beiden Nerven desselben Frosches in zwei separaten Reizungskammern mit dem einen und dem anderen Anaestheticum. Eine einfache Vorrichtung erlaubte es uns, den Strom in den einen oder in den anderen Nerven zu leiten.

Auf diese Weise gelang es uns, die Variationen, die von den Tieren herrühren (Gewicht, Geschlecht, jahreszeitliche Stoffwechsellage usw.), ganz auszuschalten.



Schema.

5. Was den Zeitpunkt anbelangt, in welchem eine jede dieser verschiedenen Operationen ausgeführt werden soll, haben wir, um die vorhergehenden Angaben zu vervollständigen, die folgenden Anordnungen getroffen:

a) Man nimmt die Messung der rheobasischen Spannung und den ersten Teil der Abschätzung des Nervenwiderstandes genau 2 Minuten nach der Entleerung der Reizungskammer vor. Diese Präzision hat den Zweck, den Feuchtigkeitsgrad des Nerven zu regeln. Der Glasdeckel bleibt während dieser 2 Minuten auf dem Trog, der das Präparat enthält. Sofort nach der Messung der rheobasischen Spannung nimmt man die Messung der Chronaxie und die Überprüfung der rheobasischen Spannung vor. Bevor man die Widerstandsmessung beginnt, füllt man, während der Nerv aus dem Stromkreis ausgeschaltet ist, den Trog von neuem mit Ringerlösung. Auf diese Weise bleibt der Nerv, falls man rasch vorgeht, nur etwa 3 Minuten im Trockenen. Die so erhaltenen Stabilisierungen zeigen, daß dies gar keinen Nachteil hat.

b) Bevor man auf die Wirkung der anästhetischen Ringerlösung eingeht, stabilisiert man das Präparat in derselben Flüssigkeit. Man führt diese Versuche in Abständen von 10 Minuten aus, bis man annähernd dieselben Parameterwerte erhält. Ein gut hergestelltes Präparat ist nach 30 Minuten stabilisiert.

c) Während der Wirkung des Medikamentes, das man soweit als möglich in mittleren Dosen und unter Vermeidung von zu starken oder zu schwachen Dosen gebraucht, setzt man die Messungen in Abständen von 10 Minuten fort. Wenn es sich nur um einen Vergleich der relativen anästhetischen Stärke handelt, dann scheint es uns nicht angezeigt, den Versuch über mehr als 1 Stunde seit dem Beginn der pharmakodynamischen Wirkung hinauszuziehen. Diese Dauer ist mehr als genügend, um die maximale Senkung der Chronaxie zu verwirklichen. Was die Verminderung der „Erregbarkeit" anbelangt, so wiederholen wir, daß wir ihre Berechnung in der 40. Minute vornehmen[45].

DRITTER TEIL.

Experimentelle Untersuchung der Lokalanaesthetica vom Typus des Cocains sowie der Substanzen anderer chemischer Beschaffenheit (Percain).

a) Untersuchung der Wirksamkeit des salzsauren Cocains und der des salzsauren Paraaminobenzoyldiäthylaminoäthanols.

α) Die beiden Substanzen wurden in Lösungen, deren Konzentration zwischen 0,003 und 0,30% lag, angewandt. Diese Konzentrationen sind einerseits genügend, um eine deutliche Veränderung hervorzurufen, und andererseits nicht so stark, daß die postnarkotische Unerregbarkeit den Versuch zu früh unterbricht.

Wir erlauben uns, was den Gesamtüberblick der Experimente (80 Cocain und 180 Novocainversuche), die Gesamtprüfung der Resultate und ihren Vergleich mit denen anderer Autoren anbelangt, auf die schon erwähnte Dissertation des einen von uns [20] zu verweisen.

Wir beschränken uns hier auf die Beschreibung einiger typischen Versuche. Zur Erörterung ihrer Resultate bringen wir zuerst eine komplette „Konzentration—maximale Chronaxiesenkungskurve" des Cocains, dann zwei graphische Bilder, deren eines die Wirkungskurven des Cocains und des Novocains auf Grundlage der Chronaxiesenkung, und deren anderes die Wirkungskurven derselben Substanzen auf Grundlage der Erregbarkeitsverminderung zeigen.

Wir werden hierauf die wichtigsten Schlüsse aus diesen Resultaten ziehen.

---

[45] O. Gaudin (Recherches sur l'action physiologique des pyréthrines, Thèse de Doctorat es Sciences, Paris 1937) hat die Wirkung des Pyrethrins am isolierten Nerven mit unserer Technik versucht. Er schreibt (S. 95), daß diese Methode die Messung der Veränderungen der Erregbarkeit mit großer Genauigkeit gibt.

Salzsaures Cocain in einer Lösung von 0,005 g%.

Versuchsdatum: 6. März 1935. Rana esculenta, ♀. Gewicht 40 g. Laboratoriumstemperatur 20°. Linker Nervus ischiadicus präpariert um 13 Uhr und in Ringerlösung vom p_H 6,8 aufbewahrt.

	Zeiten	Rheobase Volt	Rheobase Mikroampere	Widerstand Tausendstel Ohm	Chronaxie Tausendstel Sekunden	Erregbarkeit $\frac{1}{R\times(2\dot{I})^2\times\tau}\cdot 10^3$
Ausgangswerte	14.10	0,57	2,36	48	0,23	4,0
	14.15	Ringerlösung beinhaltend 0,005% salzsaures Cocain				
	14.25	0,68	2,91	46	0,21	3,0
	14.35	0,75	3,21	48	0,18	2,9
	14.45	0,78	3,23	48	0,18	2,7
	14.55	0,82	3,40	48	0,17	2,6
	15.05	0,86	3,69	46	0,19	2,1
	15.15	0,90	3,93	45	0,20	1,8

Salzsaures Cocain in einer Lösung von 0,05 g%.

Versuchsdatum: 16. Februar 1935. Rana esculenta, ♀. Gewicht 27 g. Laboratoriumstemperatur 21°. Linker Nervus ischiadicus um 9.30 Uhr präpariert und in Ringerlösung vom p_H 6,8 aufbewahrt.

	Zeiten	Rheobase Volt	Rheobase Mikroampere	Widerstand Tausendstel Ohm	Chronaxie Tausendstel Sekunden	Erregbarkeit $\frac{1}{R\times(2\dot{I})^2\times\tau}\cdot 10^3$
Ausgangswerte	10.55	0,36	0,92	85	0,32	10,9
	11.	Ringerlösung beinhaltend 0,05% salzsaures Cocain				
	11.10	0,62	1,77	75	0,27	3,9
	11.20	0,80	2,16	80	0,22	3,0
	11.30	1,06	2,87	80	0,19	2,0
	11.40	1,10	2,98	80	0,19	1,8
	11.50	1,14	3,02	82	0,18	1,8
	12.	1,19	3,30	78	0,20	1,4

Salzsaures Paraaminobenzoyldiäthylaminoäthanol in 0,05 g%.

Versuchsdatum: 12. April 1935. Rana esculenta, ♀. Gewicht 34 g. Laboratoriumstemperatur 20°. Rechter Nervus ischiadicus um 17 Uhr präpariert und in Ringerlösung vom p_H 6,8 aufbewahrt.

	Zeiten	Rheobase Volt	Rheobase Mikroampere	Widerstand Tausendstel Ohm	Chronaxie Tausendstel Sekunden	Erregbarkeit $\frac{1}{R\times(2\dot{I})^2\times\tau}\cdot 10^3$
Ausgangswerte	18.	0,41	1,36	63	0,37	5,8
	18.05	Ringerlösung beinhaltend 0,05 g% salzsaures Paraaminobenzoyldiäthylaminoäthanol				
	18.15	0,70	2,60	55	0,30	2,2
	18.25	1,08	4,07	54	0,24	1,1
	18.35	1,19	4,78	50	0,20	1,0
	18.45	1,30	5,58	46	0,20	0,9
	18.55	1,45	6,22	46	0,18	0,8
	19.05	1,45	6,02	48	0,18	0,8
	19.15	1,38	5,92	46	0,22	0,7

β) Die Regelmäßigkeit dieser Kurven (Abb. 5 und 6), die man unter Berücksichtigung der maximalen Chronaxiesenkung und ohne Berück-

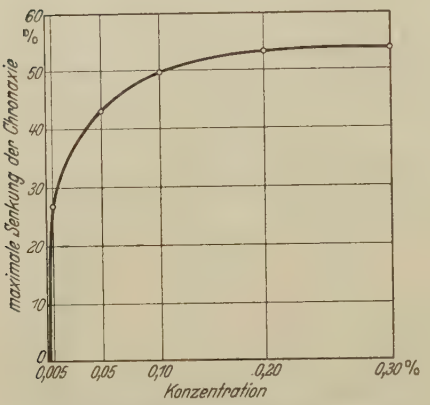


Abb. 5. Mit salzsaurem Cocain erhaltene Konzentrationswirkungskurve (durchschnittliche maximale Chronaxiesenkung in %) (Winter 1935).

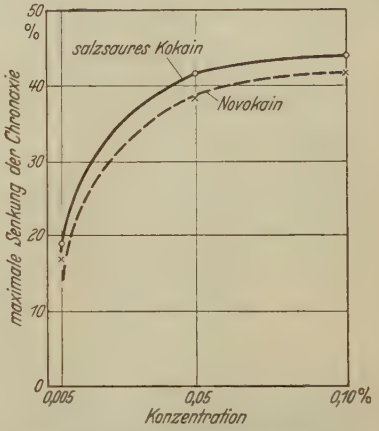


Abb. 6. Mit salzsaurem Cocain und Novocain gleichzeitig erhaltene Konzentrationswirkungskurven (durchschnittliche maximale Chronaxiesenkung in %) (Sommer 1936).

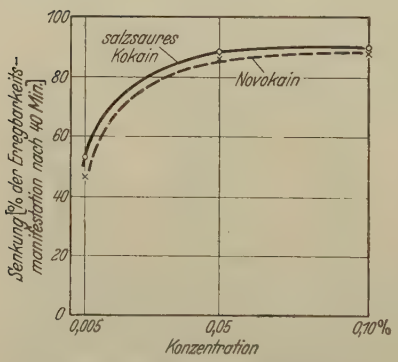


Abb. 7. Mit salzsaurem Cocain und Novocain gleichzeitig erhaltene Konzentrationswirkungskurven (durchschnittliche Senkung in % der Erregbarkeitsmanifestation nach 40 Min.) (Sommer 1936).

sichtigung der Wirkungsdauer erhält, bestätigt die Resultate, die der eine von uns vor einigen Jahren erhalten hat.

Es ist also durchaus möglich, einzig und allein mit Hilfe der Messung der Chronaxie die Wirksamkeit des salzsauren Cocains, das man als Typus wählt, mit der eines anderen Anaestheticums ähnlichen Wirkungscharakters, z. B. des Novocains, zu vergleichen[46].

Die Messung der „Erregbarkeit" nach einer Wirkung von 40 Minuten gibt uns in diesem Falle keine besseren Resultate als die einfache Messung der Chronaxie (Abb. 7). Man sieht sogar in der erwähnten Dissertation

[46] Es ist interessant, bei dieser Gelegenheit festzustellen können, daß die Verbesserungen unserer Technik (gleichzeitige Prüfung der beiden Anaesthetica in gekuppelten Küvetten; gleichzeitige, d. h. zur selben Jahreszeit ausgeführte gesamte Konstruktion der beiden „Konzentrationswirkungs"-Kurven; Benutzung zahlreicher und aus einer homogenen Gruppe herstammender Tiere zu dieser Konstruktion) uns manchmal andere, aber ganz bestimmt genauere Resultate als die, die der eine von uns vor einigen Jahren veröffentlicht hat, gegeben haben. Er erklärte z. B., daß das salzsaure Paraaminobenzoyldiäthylaminoäthanol auf den motorischen Nerven fünfmal stärker wirke als das salzsaure Cocain, während es jetzt scheint, daß die beiden Substanzen annähernd denselben Wert besitzen.

(s. Anm. 20), daß, wenn man (wie es die deutschen Autoren taten) die Senkung der Chronaxie im Verhältnis zur Zeit verfolgt, anstatt die maximale Senkung dieses Parameters zu suchen (vorausgesetzt, daß man nicht zu lange wartet), man mindestens ebenso gute und sogar bessere Ergebnisse erhält, als durch die Betrachtung der „Erregbarkeit" in denselben Zeitpunkten.

Der Widerstand des Nerven — was zumindestens die mittleren Dosen anbelangt — hat verhältnismäßig wenig unter der Wirkung des salzsauren Cocains zu leiden. Er scheint von der anderen Substanz etwas mehr beeinflußt zu werden, was sich durch eine Verminderung des Widerstandes bemerkbar macht.

Wir haben im allgemeinen im Zeitpunkte des Aufstiegs der Chronaxie weder eine Stabilisierung noch einen Wiederanstieg des Widerstandes bemerkt.

Wir haben ganz allgemein festgestellt, daß die Verminderung des Widerstandes um so größer war, je größer der Ausgangswert dieses Parameters gewesen war. Im übrigen haben wir kein deutliches Verhältnis zwischen der Änderung des Widerstandes gegen den galvanischen Strom und der toxischen Dosis bemerkt.

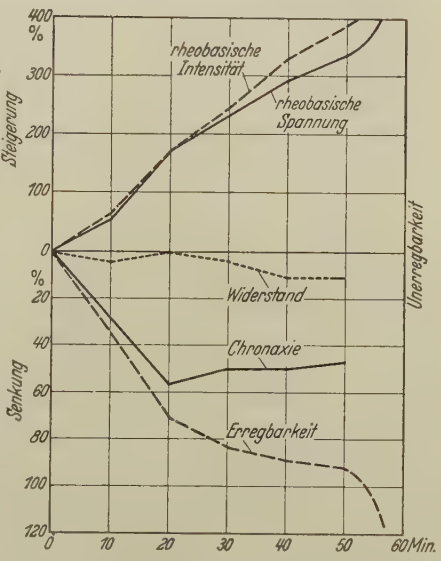


Abb. 8. Versuchsdatum: 19. I. 1935. ♀ Gewicht: 48 g. Laboratoriumstemperatur: 18°. Wirkung des salzsauren Cocains in einer Konzentration von 0,20 %.

Man kann aus dem Sinne der Änderungen des Nervenwiderstandes schließen, daß die relativen Änderungen der Rheobasenintensität (*I*) viel wichtiger sind als die der rheobasischen Spannung.

Die „Erregbarkeit", durch die energetische Formel von H. Lassalle und L. Lapicque ausgedrückt, sinkt vom Beginn der anästhetischen Wirkung an und strebt für die mittleren Dosen nach einem Minimum, und für die starken Dosen nach einem Nullpunkt. Die Zustandsänderung des Nervenpräparats, die durch die phasische Entwicklung der Chronaxie so deutlich gekennzeichnet ist, ist hier viel weniger bemerkbar. Sie ist durch den überwiegenden Einfluß der Rheobase, deren phasische Änderung sehr undeutlich ist, und durch den des Widerstandes, der gewöhnlich keine phasische Änderung zeigt, vollständig verdeckt (s. Versuch der Abb. 8).

Diese Erregbarkeitsverminderung, die man also äußerst regelmäßig gleich am Anfang der Wirkung des Cocains und des Novocains feststellt, erlaubt es uns die Hypothese J. Sivadjians, nach der der Narkose eine

Erregbarkeitssteigerung vorausgehen soll, aufs entschiedenste abzulehnen. Wenn wir also die maximale Senkung der Chronaxie zum Teste nehmen, so messen wir mit Bestimmtheit eine narkotische Aktion (und höchstwahrscheinlich die reinste Phase dieser narkotischen Aktion) und nicht irgendeine vornarkotische Übererregbarkeit.

b) Untersuchung der Wirksamkeit des salzsauren Butyloxychinolindiäthyläthylendiamin (Percain).

α) Wir haben mit dieser Substanz ungefähr 60 Versuche ausgeführt. Die Konzentrationen schwankten zwischen 0,002 und 0,20 g%. Die Schwellendosis scheint bei 0,003 g% zu liegen.

Wir reproduzieren im laufenden zwei Versuche, von denen der eine mit einer Konzentration von 0,005 g%, der andere mit einer zehnmal stärkeren Konzentration ausgeführt worden ist.

Percain in einer Lösung von 0,005 g%.

Versuchsdatum: 16. April 1935. Rana esculenta, ♀. Gewicht 34 g. Laboratoriumstemperatur 23°. Linker Nervus ischiadicus präpariert um 13.30 Uhr.

	Zeiten	Rheobase		Widerstand	Chronaxie	Erregbarkeit $\frac{1}{R\times(2\,I)^2\times\tau}\cdot 10^3$
		Volt	Mikroampere	Tausendstel Ohm	Tausendstel Sekunden	
Ausgangswerte	16.25	0,35	1,61	42	0,36	6,3
	16.30	Percain 0,005 % in Ringerlösung vom p_H 6,8				
	16.40	0,59	2,53	46	0,20	4,2
	16.50	0,49	2,10	46	0,21	5,8
	17.	0,46	1,97	46	0,24	5,8
	17.10	0,49	2,10	46	0,21	5,8
	17.20	0,53	2,23	47	0,20	5,5
	17.30	0,56	2,36	47	0,22	4,3
	17.40	0,59	2,48	47	0,21	4,1
	17.50	0,66	2,73	48	0,20	3,5
	18.	0,80	3,31	48	0,17	2,7

Percain in einer Lösung von 0,05 g%.

Versuchsdatum: 10. April 1936. Rana esculenta, ♂. Gewicht 29 g. Laboratoriumstemperatur 22°. Linker Nervus ischiadicus präpariert um 8 Uhr.

	Zeiten	Rheobase		Widerstand	Chronaxie	Erregbarkeit $\frac{1}{R\times(2\,I)^2\times\tau}\cdot 10^3$
		Volt	Mikroampere	Tausendstel Ohm	Tausendstel Sekunden	
Ausgangswerte	9.15	0,48	1,92	50	0,23	5,9
	9.20	Percain 0,05 % in Ringerlösung vom p_H 6,8				
	9.30	0,51	1,76	60	0,21	6,4
	9.40	0,58	1,95	62	0,23	4,6
	9.50	0,71	2,45	60	0,23	3,0
	10.	0,90	3,11	60	0,21	2,0
	10.10	1,20	4,15	60	0,18	1,3
	10.20	Unerregbarkeit				

β) Ein Blick auf diese Versuche, die allgemein beobachtete Tatsachen veranschaulichen, erlaubt uns die folgenden Schlüsse zu ziehen:

Obwohl unsere Konzentrationen viel schwächer [47] als die von W. Laubender und M. Saum waren, können wir dennoch die Beobachtungen dieser Autoren bestätigen. Das Percain übt eine ganz andere Wirkung aus als das Cocain und das Novocain.

So beobachtet man unregelmäßige und meistens sehr rasche Veränderungen der Chronaxie und der Rheobase, ohne daß es möglich wäre, ein deutliches Minimum des ersten dieser Parameter festzustellen. Man sieht sogar manchmal die beiden Parameter sich im selben Sinne verändern.

Man beobachtet daher ganz eigenartige Veränderungen der Erregbarkeit, die sich z. B. sogar zu Beginn der Wirkung verhältnismäßig starker Dosen durch eine Übererregbarkeitsperiode manifestieren.

Wir beobachten schließlich gleich zu Beginn des Versuchs eine Widerstandssteigerung des Nervenabschnittes, die ziemlich lange dauern und für hohe Konzentrationen 10 bis 15000 Ohm erreichen kann.

γ) Um die relative anästhetische Wirkungskraft des Percains und des Cocains kennenzulernen, ist es also nicht wie vorher möglich, die maximale Senkung der Chronaxie zu verwenden. Wir haben daher diese beiden Anaesthetica in gekuppelten Trögen studiert und die Senkung der Erregbarkeit nach einer Wirkung von 40 Minuten berechnet. Die Ergebnisse sind in den folgenden Kurven wiedergegeben (Abb. 9).

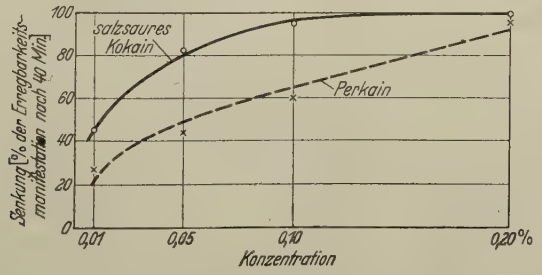


Abb. 9. Mit dem salzsauren Cocain und mit dem Percain gleichzeitig erhaltene Konzentrationswirkungskurven (durchschnittliche Senkung in % der Erregbarkeitsmanifestation nach 40 Min.).

[47] Es scheint uns hier notwendig, was die Unterschiede zwischen unseren Ergebnissen und denen der deutschen Autoren anbelangt, auf den deutlichen Unterschied der beiden Apparaturen hinzuweisen. Während der eine von uns vor einigen Jahren einen Elektrodenabstand von 11 mm und wir jetzt für die obenerwähnten Versuche einen Abstand von 20 mm verwendeten, benutzten die deutschen Autoren einen Abstand von nur 7—8 mm. Wir befinden uns also deutlichen Unterschieden in der Länge und im Volumen der in Frage stehenden Nervengewebe gegenüber, was natürlich die Wirkungsgeschwindigkeit der Lösungen verändern kann. Es ist übrigens, seit den Arbeiten von H. Cardot und H. Laugier [C. r. Soc. Biol. **76**, 539 (1914)] bekannt, daß der Elektrodenabstand einen großen Einfluß auf die Werte der Chronaxie besitzt (die Chronaxie wächst mit der Erweiterung des Abstandes).

Ein Blick auf die beiden Kurven der „konzentrations-prozentualen Erregbarkeitssenkung nach 40 Minuten" zeigt uns vor allem, daß der Vorgang der narkotischen Wirksamkeit der beiden Anaesthetica nicht demselben Gesetz gehorcht. Die Percainkurve ist tatsächlich weit von der parabolisch regelmäßigen Form der Cocainkurve entfernt.

Wenn wir nun speziell die mittleren Dosen in Betracht ziehen, dann bemerken wir, daß man die 80%ige Senkung, die man in 40 Minuten mit einer Cocainkonzentration von 0,05 g% erreicht, unter denselben Umständen erst mit einer Percainkonzentration von ungefähr 0,15 g% erreicht. Das Percain wirkt also, unter diesen Versuchsbedingungen (mittlere Dosis und verhältnismäßig kurze Wirkungszeit), auf den motorischen Nerven beinahe dreimal schwächer als das Cocain[48].

Wir werden später zeigen, daß das Percain eine ganz spezielle Wirksamkeit besitzt; es fixiert sich sehr langsam, aber dafür äußerst stark.

δ) Um das besondere Verhalten des Percains deutlich zu machen, haben wir systematische Ausspülungsversuche mit Nervenpräparaten, die mit Cocain, Novocain und Percain behandelt worden waren, unternommen. Es handelte sich darum, die Reversibilität der Anästhesie, die jede dieser Substanzen erzeugt, näher kennenzulernen. Bekanntermaßen ist die Leichtigkeit, mit der ein anästhesiertes Präparat in seinen normalen Zustand zurückkehrt, eine der wichtigsten Qualitäten eines Anaestheticums.

c) Untersuchung der Reversibilität der Anästhesie, die man durch Cocain, „Novocain" und Percain hervorruft, vermittelst langdauernden Waschens.

α) Präparate, die mit einer Lösung von 0,0125 g% salzsauren Cocains behandelt worden waren, wurden entweder während der Senkung der Chronaxie oder während ihres Wiederanstieges mit Ringerlösung gewaschen. Wir konnten so in regelmäßigen Abständen das Verhalten der Chronaxie unter dem Einfluß der Ausspülung messen. Wir stellten nach einer Ausspülung von durchschnittlich 1 Stunde fest, daß die Chronaxie in allen Fällen in die Nähe des Ausgangswertes zurückgeleitet war, ohne ihn jedoch im allgemeinen genau zu erreichen. Die Reversibilität existiert also in beiden Phasen.

Wenn wir aber jeden Versuch genau verfolgen, dann sehen wir, daß die Rückkehr der Chronaxie sich verschieden gestaltet, je nachdem die Ausspülung im Laufe der ersten oder der zweiten Periode ausgeführt worden war[49].

Die Wirkung der ersten Ausspülung drückt sich also in den Versuchen der ersten Art durch einen regelmäßigen Wiederaufstieg der Chronaxie aus, während man in den Versuchen der zweiten Art eine zusätzliche Erscheinung, und zwar eine

---

[48] Dieses Ergebnis stimmt mit dem von W. Laubender und M. Saum durch eine einfache Chronaxiemessung gefundenen überein; es scheint aber im Gegensatz zu den Ergebnissen zu stehen, die man mit Hilfe des Du Bois-Reymondschen Schlittens erhält. — [49] Die zwei folgenden Versuche sind vor der Vervollkommnung unserer folgenden der Widerstandsmessung ausgeführt worden.

deutliche Verminderung des Parameters vor seinem definitiven Wiederaufstieg, auftreten sieht.

Es handelt sich also letzten Endes in beiden Fällen um eine symmetrische Veränderung der Chronaxie im Verhältnis zum Beginn der Ausspülung. Der Nerv kehrt, anders gesagt, nach Vertauschung der anästhetischen Lösung mit einer Ringerlösung in seinen normalen Zustand zurück, indem er, aber diesmal in umgekehrter Richtung, dieselben Phasen durchläuft[50].

β) Ähnliche Versuche sind mit dem Novocain ausgeführt worden und haben dasselbe Resultat ergeben. Man sieht auch in diesen Versuchen die Rückkehr zum Ausgangswert der Erregbarkeit, der durch die energetische Formel ausgedrückt ist. Der erste Versuch zeigt eine Ausspülung während der ersten Phase, d. h. während der Verminderung der Chronaxie; der zweite eine Ausspülung während der zweiten Phase, d. h. während des Wiederanstieges der Chronaxie. In beiden Versuchen wurde eine Konzentration von 0,05 g% benutzt, d. h. eine Konzentration, die um vieles stärker ist als die eben wirksame, die nur 0,003 g% beträgt.

Ausspülung während der ersten Phase (Verminderung der Chronaxie). Versuchsdatum: 30. Mai 1933. Rana esculenta, ♀. Gewicht 18 g. Laboratoriumstemperatur 18°. Rechter Nerv in Ringerlösung vom p_H 6,8 stabilisiert.

	Zeiten	Rheobasische Spannung	Chronaxie Tausendstel Sekunden
Ausgangswerte	14.40	0,76	0,37
	Wirkung von 0,0125 % salzsaurem Cocain in Ringerlösung		
	14.50	1,14	0,30
	15.	1,54	0,27
	15.10	1,94	0,26
	Ausspülung mit Ringerlösung		
	15.20	1,44	0,26
	15.30	1,38	0,26
	15.40	1,28	0,29
	15.50	1,06	0,35
	16.	1,08	0,34

Ausspülung während der zweiten Phase (Wiederanstieg der Chronaxie). Versuchsdatum: 27. Juni 1933. Rana esculenta, ♀. Gewicht 16 g. Laboratoriumstemperatur 21°. Linker Nerv in Ringerlösung vom p_H 6,8 stabilisiert.

	Zeiten	Rheobasische Spannung	Chronaxie Tausendstel Sekunden
Ausgangswerte	16.50	1,76	0,28
	Wirkung von 0,0125 % salzsaurem Cocain in Ringerlösung		
	17.	3,52	0,15
	17.10	2,24	0,25
	Ausspülung mit Ringerlösung		
	17.20	2,40	0,22
	17.30	2,88	0,19
	17.40	2,56	0,17
	17.50	2,72	0,19
	18.	2,24	0,24
	18.10	1,96	0,27

[50] Es ist interessant, bei dieser Gelegenheit an eine Beobachtung W. Straubs [Pflügers Arch. **119**, 127 (1907)] zu erinnern. Er zeigte, daß das Aplisienherz, das der Wirkung des Muskarins ausgesetzt ist, zuerst einen Stillstand, nach einer gewissen Zeit aber, eine Wiederherstellung erfährt, obwohl es die ganze Zeit über mit dem Gifte in Berührung geblieben war. Er zeigte außerdem, daß die inhibitorische Wirkung von neuem auftritt, wenn man das Organ im Moment der Wiederherstellung auswäscht.

Versuchsdatum: 14. Juni 1937. Rana esculenta, ♀. Gewicht 30 g. Laboratoriumstemperatur 20°. Linker Nervus ischiadicus um 15.15 Uhr präpariert. Stabilisierung in Ringerlösung vom p_H 6,8.

	Zeiten	Rheobase		Widerstand	Chronaxie	Erregbarkeit
		Volt	Mikroampere	Tausendstel Ohm	Tausendstel Sekunden	$\frac{1}{R\times(2I)^2\times\tau}\times 10^3$
Ausgangswerte	16.50	0,54	2,16	50	0,30	3,6
	16.55	Wirkung von in Ringerlösung verdünnten 0,05 % Novocain				
	17.05	0,88	3,65	48	0,25	1,6
	17.15	1,06	4,40	48	0,24	1,1
	17.25	1,20	4,98	48	0,23	0,9
	17.30	Ausspülung mit Ringerlösung				
	17.35	1,12	4,50	50	0,23	1,1
	17.45	1,06	4,40	48	0,23	1,2
	17.55	0,96	3,85	50	0,24	1,4
	18.05	0,96	3,85	50	0,24	1,4
	18.15	0,77	3,19	48	0,26	2,0
	18.25	0,70	2,81	50	0,27	2,3

Versuchsdatum: 28. Juni 1937. Rana esculenta, ♀. Gewicht 40 g. Laboratoriumstemperatur 19°. Linker Nervus ischiadicus um 15.50 Uhr präpariert. Stabilisierung in Ringerlösung vom p_H 6,8.

	Zeiten	Rheobase		Widerstand	Chronaxie	Erregbarkeit
		Volt	Mikroampere	Tausendstel Ohm	Tausendstel Sekunden	$\frac{1}{R\times(2I)^2\times\tau}\times 10^3$
Ausgangswerte	17.10	0,44	0,90	110	0,30	9,3
	17.15	Wirkung von in Ringerlösung verdünnten 0,05 % Novocain				
	17.25	0,48	1,17	90	0,23	8,7
	17.35	0,62	1,68	80	0,19	5,8
	17.45	0,52	1,27	90	0,23	7,5
	17.55	0,48	1,17	90	0,27	7,5
	18.	Ausspülung mit Ringerlösung				
	18.05	0,58	1,76	70	0,22	5,3
	18.15	0,48	1,30	80	0,25	7,4
	18.25	0,92	1,40	80	0,24	6,6
	18.35	0,47	1,27	80	0,27	7,2
	18.45	0,52	1,40	80	0,26	6,1
	18.55	0,44	1,19	80	0,25	8,8
	19.05	0,42	1,13	80	0,29	8,5

γ) Dieselben Versuche sind mit Percainlösungen ausgeführt worden. Die Konzentrationen (0,003 und 0,005 g%) waren den gerade wirksam werdenden äußerst nahe. Es handelte sich darum, so günstig als mögliche Bedingungen für die Reversibilität zu schaffen.

Wenn man also, wie im ersten Versuch, die Ausspülung im Laufe der ersten 15 oder 20 Minuten der anästhetischen Aktion vornimmt, dann beobachtet man eine Wiederherstellung der Erregbarkeit, die fast ihren Ausgangswert erreicht. Wenn man aber, wie im zweiten Versuch, die Wirkungsdauer verlängert, dann gibt es nicht nur keine Reversibilität, sondern man sieht im Gegenteil eine Beschleunigung des Vorganges, der zur Unerregbarkeit führt.

Diese Feststellungen scheinen daher die Schlußfolgerung zu rechtfertigen, daß die Bindung des Percains mit den protoplasmatischen Grundsubstanzen eine viel festere ist als die der beiden anderen Körper[51].

Versuchsdatum: 28. Februar 1936. Rana esculenta, ♂. Gewicht 41 g. Laboratoriumstemperatur 18°. Linker Nervus ischiadicus um 15 Uhr präpariert.

	Zeiten	Rheobase		Widerstand	Chronaxie	Erregbarkeit $\frac{1}{R\times(2\,I)^2\times\tau}\times 10^3$
		Volt	Mikroampere	Tausendstel Ohm	Tausendstel Sekunden	
Ausgangswerte	16.20	0,41	1,42	60	0,43	4,9
	16.25	0,003% Percain in Ringerlösung vom p_H 6,8				
	16.35	0,36	1,16	65	0,45	6,3
	16.45	0,38	1,23	65	0,42	6,0
	16.50	Ausspülung mit reiner Ringerlösung vom p_H 6,8				
	16.55	0,38	1,31	60	0,45	5,4
	17.05	0,38	1,31	60	0,40	6,0
	17.15	0,38	1,31	60	0,40	6,0
	17.25	0,38	1,31	60	0,41	5,9
	17.35	0,38	1,31	60	0,40	6,0
	17.45	0,34	1,17	60	0,45	6,8
	17.55	0,34	1,17	60	0,45	6,8
	18.05	0,34	1,17	60	0,46	6,6
	18.15	0,34	1,17	60	0,45	6,8
	18.25	0,38	1,31	60	0,42	5,8
	18.35	0,40	1,52	55	0,40	4,9

Versuchsdatum: 16. April 1935. Rana esculenta, ♂. Gewicht 34 g. Laboratoriumstemperatur 21°. Rechter Nervus ischiadicus um 8 Uhr präpariert.

	Zeiten	Rheobase		Widerstand	Chronaxie	Erregbarkeit $\frac{1}{R\times(2\,I)^2\times\tau}\times 10^3$
		Volt	Mikroampere	Tausendstel Ohm	Tausendstel Sekunden	
Ausgangswerte	9.25	0,38	1,85	39	0,27	6,9
	9.30	0,005% Percain in Ringerlösung vom p_H 6,8				
	9.40	0,49	2,17	44	0,21	5,7
	9.50	0,46	1,97	46	0,20	7,0
	10.	0,53	2,27	46	0,19	5,6
	10.10	0,53	2,27	46	0,20	5,3
	10.15	Ausspülung mit reiner Ringerlösung vom p_H 6,8				
	10.20	0,59	2,62	44	0,20	4,2
	10.30	0,63	2,79	44	0,20	3,6
	10.40	0,73	3,24	44	0,20	2,7
	10.50	0,86	3,82	44	0,20	1,9
	11.	1,54	7,10	42	0,14	0,8
	11.10	1,57	7,37	41	0,14	0,8
	11.20	Unerregbarkeit				

[51] Diese Ergebnisse erinnern an die Versuche über die Percainwirkung, die von W. Lipschitz und W. Laubender [Klin. Wschr. **31**, 1438 (1929)] mit der Induktionsspule und von P. Frugoni [Boll. Soc. ital. Biol. sper. **9**, 1308 (1934)], R. Santi und B. Zweifel [Boll. Soc. ital. Biol. sper. **10**, 648 u. 652 (1935)] und Donatelli Leonardo [Arch. Farm. Sper. **60**, 482 (1935)] mit der Herzperfusion ausgeführt worden sind. Trotz Anwendung sehr verdünnter Lösungen und langdauernder Ausspülung war eine Umkehrung der toxischen Percainwirkung nur äußerst schwierig zu erhalten.

d) Schlußfolgerungen bezüglich des Wirksamkeitsunterschiedes der untersuchten Lokalanaesthetica.

α) Wir können jetzt, im Überblick auf all diese Versuche, den Schluß ziehen, daß das Percain, ein Körper vom Typus des Chinins, sich ganz anders verhält als die beiden anderen Anaesthetica (Cocain und Novocain), die Substanzen vom Cocaintypus darstellen.

β) Was die Messung der pharmakodynamischen Percainwirkung anbelangt, schließen wir uns ganz der Ansicht von W. Laubender an. Das Fehlen der phasischen Chronaxieänderung und des Auftretens eines deutlichen Minimums im Falle des Percains erlaubt es uns nicht, wie es unsere Absicht war, uns der Chronaxieänderung zu bedienen. Aber es scheint uns erlaubt, sowohl für das Percain als auch für die anderen Lokalanaesthetica die zeitliche Entwicklung der Chronaxie und der Erregbarkeit — und besonders die Verminderung der letzteren — zu gebrauchen, unter Voraussetzung des Einhaltens einer mittleren Wirkungsdauer, z. B. zwischen 30 und 40 Minuten.

γ) Obwohl wir mit Hilfe der Erregbarkeitsmessung sogar für das Percain zu ganz annehmbaren Ergebnissen gekommen sind, können wir nicht umhin darauf hinzuweisen, daß es sich bei dieser Substanz um eine ganz andere Anästhesie als bei den Körpern vom Cocaintypus handelt.

Das Percain, das eine schwache Infiltrationsfähigkeit, aber eine rasch irreversible Wirkung besitzt, gehorcht in seiner pharmakodynamischen Wirksamkeit absolut nicht denselben Gesetzen wie die anderen Substanzen. Ein Blick auf die Kurven erlaubt es uns zu behaupten, daß die Wirkung des Percains im Verhältnis zur Konzentration viel langsamer als die des Cocains ansteigt, daß aber diese Steigerung um vieles länger anhält. Die Wirksamkeit im Verhältnis zur Berührungsdauer scheint aber andererseits um vieles rascher als bei den anderen Substanzen zu wachsen.

Das Percain erscheint also im Grunde genommen als eine Substanz ganz besonderer Art, deren Wirkung mit der unserer gewöhnlichen Versuchskörper nicht vergleichbar ist. Verhält sich diese Substanz in Wirklichkeit wie ein Lokalanaestheticum? Die einfache Betrachtung der raschen Irreversibilität seiner Aktion erklärt unser Zögern dies zu bejahen[52].

Es sei in diesem Zusammenhang bemerkt, daß G. Kahlson und R. v. Werz[53] mit einem von dem unsrigen abweichenden Vorgehen (Benutzung langsam ansteigender Reizströme an Stelle rechteckiger Stromstöße in unseren Versuchen) hinsichtlich des Percains zum gleichen Ergebnis gelangt sind, insofern sich auch in ihren Versuchen das Percain am Nerven anders verhielt als das Cocain, so daß es nach den Autoren kaum als echtes Narkoticum angesprochen werden kann.

Zusammenfassung.

Wir haben zuerst die hauptsächlichsten Arbeiten, die sich mit der Bestimmung der Wirksamkeit der Lokalanaesthetica durch die Chronaxie-

---

[52] Ein gutes Lokalanaestheticum muß nach der Definition von E. Fourneau (Préparation des médicaments organiques, p. 94. Paris, J. B. Bailliere édit, 1921) unter anderen die folgende Eigenschaft besitzen: Es darf nicht die Nervenfibern dauernd beschädigen und muß ohne Hinterlassung von Spuren verschwinden. — [53] Kahlson, G., u. Werz, R. v.: Skand. Arch. Physiol. **74**, 163 (1936).

messung des Nerven beschäftigen, in Erinnerung gerufen und dabei die Einwände, die gegen dabei benutzte Verfahren erhoben worden waren, einer Prüfung unterzogen. Wir untersuchten und diskutierten bei dieser Gelegenheit hintereinander die Arbeiten von P. K. Knoefel, die Anschauungen J. Sivadjians sowie die Versuche und Betrachtungen von W. Laubender und M. Saum.

Die Methode des ersten dieser Autoren erübrigt es uns, näher auf seine Arbeiten einzugehen. Die Hypothesen des zweiten, nach denen die primäre Chronaxiesenkung einer vornarkotischen Übererregbarkeit und nicht dem Beginn der anästhetischen Wirkung entspricht, können nicht aufrechterhalten werden, wenn man sowohl die theoretischen Betrachtungen als auch die experimentellen und klinischen Ergebnisse einer näheren Prüfung unterzieht, ja sie müssen sogar aufs entschiedendste abgelehnt werden, wenn man nicht nur die Evolution der Chronaxie, sondern auch die der Erregbarkeit berücksichtigt.

Die Arbeiten von W. Laubender und M. Saum haben eine ganz besondere Berücksichtigung erfahren. Wir haben vergleichende Versuche mit dem Cocain, dem Novocain und Percain ausgeführt, um die Anschauungen der beiden deutschen Autoren zu überprüfen, besonders was den letzten dieser Körper (dessen chemische Konstitution ganz verschieden ist) anbetrifft. Wir zeigten gleich am Anfang, daß der Unterschied zwischen den Ergebnissen dieser Autoren und den unsrigen von der Anwendung eines verschiedenen Anästhesie-Testes herrührt.

Wir haben von neuem festgestellt, daß der Test (maximale, primäre, von der Zeit unabhängige Senkung der Chronaxie), den wir seit langen Jahren für die Anaesthetica vom Cocaintypus anwenden, außerordentlich regelmäßige Resultate ergibt. Wir haben schließlich, im Einklang mit den deutschen Gelehrten, gezeigt, daß das Percain, ein Anaestheticum vom Chinintypus, sich ganz und gar verschieden verhält.

Diese Verschiedenheit betrifft sowohl die Evolution der Chronaxie, der Rheobase und des Nervenwiderstandes gegen den galvanischen Strom, als auch die Rückkehr nach Ausspülung des narkotisierten Nerven zum normalen Zustande (raschere Irreversibilität der Percainwirkung).

Obwohl die Percainwirkung (langsamerer Anstieg der Wirksamkeit für schwache, aber längerdauernde Wirkung für starke Konzentrationen) einem ganz anderen Gesetz gehorcht, als die Wirkung der Anaesthetica vom Cocaintypus, ist es dennoch möglich, die Wirksamkeit des Percains durch die Messung der prozentualen Erregbarkeitsverminderung, nach einer gewissen Zeit und unter Anwendung der energetischen Erregbarkeitsformel, zu bestimmen.

Zur Ausführung der verschiedenen Versuche haben wir neben anderen modernen Anschauungen und neuen Methoden die folgenden benutzt: das Präzisionschronaximeter von L. Lapicque, die Messung des Nerven-

widerstandes gegen den galvanischen Strom, die energetische Erregbarkeitsformel von H. Lassalle und L. Lapicque $\left(\frac{1}{R \times (2\,I)^2 \times \tau}\right.$, in welcher R den Widerstand, I die Rheobase und τ die Chronaxie darstellen) und die gekuppelten Tröge, die eine gleichzeitige Messung und einen Vergleich der Wirkung des Cocains mit der eines anderen Anaestheticums ermöglichen. Während die Verbesserungen der gewöhnlichen Technik uns genauere Resultate ergaben, erlaubten es uns diese Methoden, das pharmakodynamische Wirkungsproblem der Lokalanaesthetica von neuen Seiten aus zu betrachten.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Jena.
(Direktor: Prof. W. Veil.)

Über die Veränderungen des Serum-Schwefels bei parenteraler Thiophen-Schwefelzufuhr (in Form von Ca-Leukichthol und Rheumichthol).

Von
Stabsarzt Dr. **Paul Backert**, kommandiert zur Klinik.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. Juni 1939.)

Die zunehmenden Erkenntnisse über die Bedeutung des Schwefels im physiologischen und pathologischen Stoffwechselgeschehen, seine Rolle die er besonders beim Auf- und Abbau von Eiweißverbindungen spielt, lassen es verständlich erscheinen, daß man ihn in den letzten Jahren immer mehr in den Mittelpunkt klinischer und experimenteller Forschung gestellt hat. Besonders auf dem Gebiet der rheumatischen Gelenkerkrankungen hat man die Einwirkungen des Schwefels genauer studiert, zumal eine Reihe, auch parenteral anwendbarer Schwefelpräparate von der chemischen Industrie zur Verfügung gestellt wurde. Die Versuche, die damit angestellt wurden, ergaben einwandfrei die antirheumatische Wirkung des Schwefels und zeigten sehr gute therapeutische Erfolge bei allen jenen Arthritiden rheumatischer Genese, wo exsudative Prozesse im Vordergrund des Krankheitsbildes standen. Die therapeutischen Erfolge mit Schwefel konnten allerdings nicht das Auftreten neuer Krankheitsschübe an den Gelenken verhindern, da die letzte Ursache der rheumatischen Erkrankung auf eine Herdinfektion zurückzuführen ist.

Unsere Kenntnisse über den Wirkungsmechanismus des Schwefels sind noch sehr lückenhaft, was vor allem auf methodische Schwierigkeiten zurückzuführen ist, die sich besonders bei der Bestimmung des Serumschwefels ergaben (Lorant)[1]. Im Schrifttum sind Beobachtungen über Schwefelwirkungen und Beeinflussung des Schwefelstoffwechsels im allgemeinen und bei Gelenkrheumatismus im besonderen von Meyer-Bisch[2] und von Cawadies[3] beschrieben worden. Dabei konnte festgestellt werden, daß sich im gesunden Organismus die Schwefeleinfuhr und -ausfuhr im Gleichgewicht befindet. Bei der Anwendung therapeutischer Schwefelmengen zeigten sich starke Veränderungen des Stickstoffwechsels und des Wasser-

[1] Lorant, St.: Biochem. Z. **289**, 425 (1938). — [2] Meyer-Bisch: Über die Wirkung parenteral verabfolgten Schwefels. Z. Klin. Med. **1922**, S. 237. — [3] Cawadies: Les troubles du metabolisme du soufre. Leur rôle dans le rheumatisme chronique deformant. Ann. Med. **23**, Nr. 3, S. 425 (1928).

haushaltes. Von Wichtigkeit ist das Ansteigen des Gesamtschwefels und des Neutralschwefels im Urin am Injektionstag. Von Cawadies wird weiter berichtet, daß sich bei chronischen Gelenkerkrankungen Störungen im Schwefelhaushalt feststellen lassen, die im Urin durch vermehrte Schwefelausscheidungen zum Ausdruck kommen.

Zur weiteren Klärung des Schwefelstoffwechsels untersuchten wir nun, in welcher Form der parenteral zugeführte Schwefel in den Kreislauf gelangt und welchen Veränderungen er dort unterliegt.

Die Versuche wurden ausgeführt an klinisch gesunden Personen. In zwei Versuchsreihen bestimmten wir zunächst die Veränderungen des Serumschwefels bei intramuskulären und bei intravenösen Injektionen. Die Bestimmung der verschiedenen Schwefelfraktionen — Gesamtschwefel, Sulfatschwefel, Ätherschwefel und Neutralschwefel — wurde nach den im Prinzip von Lorant bzw. von Lorant und Herzog[4] angegebenen und von Sturm für das Stufenphotometer von Zeiss umgearbeiteten Methoden vorgenommen. Der Gang der Analysen wird von Sturm[5] in einer späteren Arbeit bekanntgegeben. Als Präparat benutzten wir das von den Werken Cordes-Hermanni u. Co., Hamburg-Lockstedt, in den Handel gebrachte Ca-Leukichthol, eine hochwertige Schwefelverbindung mit einem Gesamtschwefelgehalt von 23,5%, dessen gute Verträglichkeit und gute therapeutische Wirkung in einer Arbeit von Rauch[6] bei rheumatischen Gelenkerkrankungen nachgewiesen worden ist. Wir verwendeten zu unseren Versuchen sowohl bei der intramuskulären wie auch bei der intravenösen Anwendung 10 ccm einer 4%igen Lösung.

In einer dritten Versuchsreihe prüften wir die Resorptionsfähigkeit der Haut für Schwefel in Form von Rheumichthol, einem Einreibemittel, das ebenfalls von derselben Firma hergestellt wird und 15% Leukichthol enthält, und stellten die gefundenen Serumschwefelwerte den Werten gegenüber, die nach Anwendung einer 10%igen Ichthyolsalbe gefunden wurden. Ichthyol enthält ungefähr 10% an Schwefelverbindungen. Die Versuchsanordnung war folgende: Zunächst wurden die einzelnen Schwefelfraktionen des Nüchternblutes bestimmt. Dann wurde der gesamte Oberschenkel der Versuchsperson mit Rheumichthol eingerieben und anschließend mit einem mit derselben Flüssigkeit getränkten Gazestreifen bedeckt. Nach $2^1/_2$stündiger Einwirkung wurde dann erneut der Schwefel im Serum festgestellt. Am nächsten Tage wurde in derselben Weise mit einer 10%igen Ichthyolsalbe verfahren. Diese wurde ebenfalls in die Haut des Oberschenkels eingerieben und darüber ein Salbenlappen gelegt. Benutzt wurde eine Menge von je 50 g.

Untersucht wurden zunächst die Veränderungen des Serumschwefels bei im. Ca-Leukichtholanwendung. Die gefundenen Werte gibt die Tabelle 1 wieder.

Die Ergebnisse der ersten Versuchsreihe, die vier Versuche umfaßt, zeigen eindeutig einen Anstieg des Gesamtschwefels, der nach 4 Stunden immer noch Werte zeigt, die teilweise erheblich über den Nüchternwerten liegen. Die Hebung des Schwefelspiegels ist zum allergrößten Teil auf die Vermehrung des Neutralschwefels zurückzuführen, die maximal

---

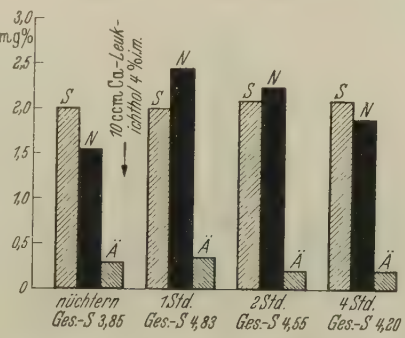
[4] Lorant, St., u. Herzog: Biochem. Z. **292/93** (1938). — [5] Sturm u. Kautzsch: Die stufenphotometrische Schwefelbestimmung im Blut nach dem Prinzip Soraux. Im Druck. — Rauch: Über Therapie mit Leukichthol bei parenteraler Anwendung. Fortschritte d. Ther., 14. Jahrg., S. 585 (1938).

Tabelle 1. Serumwerte nach intramuskulärer Injektion von 10 ccm 4%iger Leukichthollösung in mg%.

	Nüchtern	1 Std.	2 Std.	4 Std.
Fall 1, Gesamtschwefel	3,43	4,06	4,20	4,27
„ 2, „	3,85	4,83	4,55	4,20
„ 3, „	3,78	4,37	4,20	4,13
„ 4, „	3,85	5,18	4,41	4,55
Fall 1, Sulfatschwefel	2,03	2,24	2,24	2,03
„ 2, „	2,03	2,03	2,10	2,10
„ 3, „	2,29	1,96	2,03	2,03
„ 4, „	1,96	1,89	1,96	2,03
Fall 1, Ätherschwefel	0,35	0,28	0,28	0,35
„ 2, „	0,28	0,35	0,21	0,21
„ 3, „	0,39	0,63	0,49	0,49
„ 4, „	0,63	0,84	0,77	0,63
Fall 1, Neutralschwefel	1,05	1,54	1,68	1,85
„ 2, „	1,54	2,45	2,24	1,89
„ 3, „	1,17	1,78	1,68	1,61
„ 4, „	1,26	2,35	1,68	1,89

(Fall II) rund 59 % beträgt. Der Anstieg des Sulfatschwefels und des Ätherschwefels ist dagegen kaum merklich und kann nicht eindeutig beurteilt werden, da die Werte innerhalb der Fehlergrenze liegen. Diese Verhältnisse kommen in der graphischen Darstellung besonders klar zum Ausdruck.

Abb. 1. Fall 2 der Tabelle 1.



Die einzelnen Schwefelfraktionen im Serum nach im. Injektion von 10 ccm 4 %igem Ca-Leukichthol.

Die intravenöse Injektion von Ca-Leukichthol ergibt, wie nicht anders zu erwarten war, einen raschen, steilen Anstieg des Gesamtschwefels. Innerhalb von 3 Minuten ist das Maximum der Kurve erreicht, um dann stetig zu fallen. Schon nach einer Stunde ist die Konzentration des Gesamtschwefels beträchtlich abgesunken. Auch hier ist die Bewegung des Schwefelspiegels fast ausnahmslos durch den Neutralschwefel bedingt. Die gewonnenen Ergebnisse sind in der Tabelle II niedergelegt.

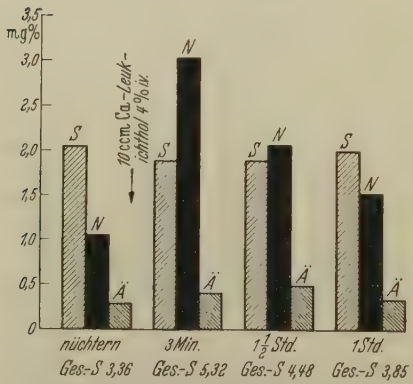
Die Abb. 2 veranschaulicht deutlich die Zunahme des Neutralschwefels bei intravenöser Ca-Leukichtholanwendung.

Beim Vergleich der Versuchsreihen I und II (intramuskuläre und intravenöse Leukichtholinjektion) ist bemerkenswert, daß der direkt ins Blut gegebene Ichthyolschwefel sich nur in der Neutralfraktion findet. Nachdem auch der intramuskulär verabreichte, also erst durch Gewebsresorption in den Kreislauf gelangte Schwefel, sich in der gleichen Form

Tabelle 2. Serumwerte nach intravenöser Injektion von 10 ccm 4%iger Leukichthollösung in mg%.

	Nüchtern	3 Min.	½ Std.	1 Std.
Fall 1, Gesamtschwefel	3,78	5,04	3,92	3,85
„ 2, „	3,50	4,20	3,78	3,43
„ 3, „	3,36	5,32	4,48	3,85
„ 4, „	3,85	5,18	4,27	4,13
Fall 1, Sulfatschwefel	1,96	2,03	1,89	2,03
„ 2, „	1,68	1,61	1,68	1,61
„ 3, „	2,03	1,89	1,89	1,96
„ 4, „	1,96	1,82	1,89	1,89
Fall 1, Ätherschwefel	0,21	0,28	0,28	0,21
„ 2, „	0,56	0,58	0,56	0,56
„ 3, „	0,28	0,42	0,49	0,35
„ 4, „	0,42	0,50	0,45	0,49
Fall 1, Neutralschwefel	1,61	2,73	1,75	1,61
„ 2, „	1,36	2,03	1,54	1,26
„ 3, „	1,05	3,01	2,10	1,54
„ 4, „	1,47	2,80	1,93	1,75

Abb. 2. Fall 3 der Tabelle 2.



Die einzelnen Schwefelfraktionen im Serum nach intravenöser Injektion von 10 ccm 4 %igem Ca-Leukichthol.

im Serum nachweisen läßt, kann daraus geschlossen werden, daß der Ichthyolschwefel unverändert in den Organismus übergeht.

Vergleicht man noch die Maximalsteigung des Neutralschwefels der einzelnen Versuchsreihen, so findet sich, daß sie bei der intravenösen Injektion nach 3 Minuten erreicht ist, während dies bei der intramuskulären erst nach einer Stunde der Fall ist. Weiter zeigt sich, daß bei der intravenösen Verabfolgung der Schwefelspiegel schon in der ersten Stunde wieder stark abgefallen ist im Gegensatz zur intramuskulären, wo er in den folgenden 3 Stunden langsam sinkt und daher zu dem Schluß berechtigt, daß zu dieser Zeit immer noch ein erheblicher Schwefelstrom nach dem Blut erfolgt. Mißt man den Zuwachs des Neutralschwefels an den Säulen der graphischen Darstellung I und II, so erkennt man, daß der Unterschied bei intravenöser und intramuskulärer Leukichtholgabe gar nicht so sehr groß ist. Es zeigt dies an, daß tatsächlich der intramuskulär verabreichte Ichthyolschwefel zu einem sehr hohen Prozentsatz, vielleicht sogar ganz, resorbiert wird.

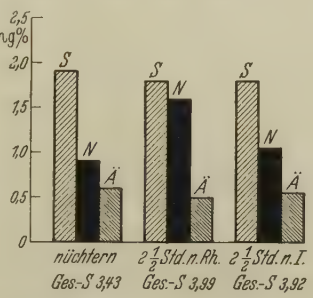
II.

Für die Frage, ob bei percutaner Leukichtholanwendung ein Übertritt von Schwefel ins Blut erfolgt, wurden Untersuchungen mit Rheumichthol und einer 10 %igen Schwefelsalbe angestellt (Tabelle 3 und Abb. 3).

Tabelle 3. Serumwerte nach percutaner Rheumichtholgabe und 10%iger Ichthyolsalbe in mg%*.

	Nüchtern	2 1/2 Std. nach Rheumichthol	2 1/2 Std. nach 10%iger Ichthyolsalbe
Fall 1, Gesamtschwefel...	3,43	3,99	3,92
„ 2, „ ...	3,57	3,50	3,64
„ 3, „ ...	3,43	3,75	3,50
„ 4, „ ...	3,75	3,99	3,82
Fall 1, Sulfatschwefel	1,89	1,82	1,82
„ 2, „	2,03	1,96	1,96
„ 3, „	1,96	1,89	1,82
„ 4, „	1,96	1,82	1,82
Fall 1, Ätherschwefel	0,65	0,50	0,56
„ 2, „	0,21	0,21	0,28
„ 3, „	0,56	0,63	0,63
„ 4, „	0,49	0,56	0,63
Fall 1, Neutralschwefel...	0,89	1,61	1,54
„ 2, „ ...	1,33	1,33	1,40
„ 3, „ ...	0,91	1,23	1,05
„ 4, „ ...	1,30	1,61	1,37

Abb. 3. Fall 1 der Tabelle 3.



Die einzelnen Schwefelfraktionen im Serum nach percutaner Rheumichthol- und 10%iger Ichthyolsalbenanwendung.

Die Versuchsergebnisse zeigen zunächst, daß in drei von vier Fällen eine deutliche Vermehrung des Serumschwefels stattgefunden hat. Auch hier ist dies durch die Steigerung des Neutralschwefels bedingt. Nach einem Zeitintervall von 2 1/2 Stunden wurde aber zweifellos der Gipfelpunkt des Schwefels nicht erfaßt, so daß die negativen Fälle wenig beweisend sind. Da aber immer ein Abfluß aus dem Blut erfolgt und bei percutaner Resorption ein viel langsamerer Schwefelstrom nach dem Blut zu erwarten ist als bei intramuskulärer, kann der Gesamtschwefel nur unwesentliche Schwankungen zeigen, weil sich Zu- und Abfluß gegenseitig die Waage halten. Daher kann aus den Werten des Einzelfalles gar nichts ausgesagt werden über die Größe der Resorption. Aus den positiven Fällen kann gefolgert werden: es gelangt Schwefel in die Blutbahn, und zwar als Neutralschwefel, also unverändert. Daß das der Fall ist, zeigen auch Beobachtungen von Beck und v. Fenyvessy[7], die die Resorption von Ichthyol an der Haut von Hunden prüften und dabei eine Vermehrung des Urinschwefels gesehen haben.

* Die Versuche mit 10%iger Ichthyolsalbe wurden am folgenden Tage an dem gleichen Fall ausgeführt.

[7] Beck, C., u. B. v. Fenyvessy: Über die Resorption des Ichthyols durch die Haut. Arch. internat. Pharmacodynam. 1889.

Die Gegenüberstellung der Werte von Rheumichthol und 10 %iger Ichthyolsalbe ergibt hinsichtlich der Schwefelveränderungen im Blut keine wesentlichen Abweichungen.

Zusammenfassung.

An klinisch gesunden Personen wurden Ca-Leukichthol und Rheumichthol hinsichtlich ihrer Resorptionsfähigkeit studiert. Dabei konnte der Nachweis erbracht werden, daß sowohl bei intramuskulärer als auch bei percutaner Anwendung der genannten Präparate eine Resorption von Schwefel ins Blut erfolgt.

Bei der Resorption werden die Ichthyolschwefelverbindungen nicht wesentlich verändert, da der dem Kreislauf zugeführte Schwefel in der gleichen Blutfraktion, nämlich in der Neutralschwefelfraktion gefunden wird, wie bei direkter intravenöser Verabfolgung.

Aus der II. Medizinischen Universitäts-Klinik der Charité in Berlin.
(Direktor: Prof. Dr. G. von Bergmann.)

Zur Störung des Milchsäurestoffwechsels im Glykogenzerfall*.

Von
Gerd Hilmers.

(Eingegangen am 2. April 1939.)

Die am häufigsten vorkommende Störung des Kohlehydratstoffwechsels ist der von Brentano beschriebene „Symptomenkomplex des Glykogenzerfalls in der Skelettmuskulatur" (1). Wir finden ihn nach übermäßiger Muskelarbeit, im Hunger und nach Abkühlung, während der Schwangerschaft, oft auch bei der Basedowschen Krankheit, bei vielen endokrinen Störungen anderer Art und schließlich auch bei fieberhaften und nicht fieberhaften Infekten, um nur die wichtigsten Gelegenheiten zu nennen, wo spontan ein Glykogenzerfall auftritt. Er ist am leichtesten zu erkennen an der Anwesenheit von Kreatin im Harn (2). Wesentlich ist für ihn eine Abnahme des Glykogens in der Skelettmuskulatur, weniger in der Leber, wobei es in der Muskulatur selbst zu einer vermehrten Bildung von Kreatin und zu einer Verminderung des Phosphagens kommt. Die Störung des Glykogenstoffwechsels ist in erster Linie gekennzeichnet durch eine mehr oder weniger erhebliche Herabsetzung der Fähigkeit des Muskels (weniger der Leber), aus verfüttertem Traubenzucker Glykogen zu bilden (3). Gleichzeitig ist dabei aber auch die Zuckerverbrennung ganz erheblich beeinträchtigt, so daß beide Glieder der gekoppelten Reaktion Zuckerverbrennung : Glykogensynthese im Glykogenzerfall eine Schädigung erfahren (12). Der Glykogenzerfall ist durch Traubenzucker-Insulinbehandlung nur dann zu beheben, wenn er durch Insulinmangel (z. B. bei unkompliziertem Diabetes, im Hunger und bei Phlorrhizinvergiftung) hervorgerufen ist (4). Er ist durch Traubenzucker-Insulin nicht zu beheben, ja wird bei dieser Behandlung womöglich noch intensiver, wenn er nicht durch Insulinmangel entstanden ist, wie z. B. bei der Thyroxinvergiftung (5, 13). Diese komplexe Störung im Kohlehydratstoffwechsel greift allemal auch über auf den Fettstoffwechsel. Es kommt zu einem gesteigerten Umsatz von Ketonkörpern (6), die offenbar als Ersatz für die schlechter verwertbar gewordenen Kohlehydrate in vermehrtem Maße in die Verbrennungen einbezogen werden.

Wir finden aber schließlich im Glykogenzerfall auch eine auffällige Störung des Milchsäurestoffwechsels. Während nämlich beim

* D 11.

gesunden Menschen und beim gesunden Kaninchen die subcutane Injektion von Adrenalin parallel mit der Hyperglykämie zu einer kräftigen Erhöhung des Milchsäurespiegels im Blute führt, fällt die Adrenalinhyperlactacidämie bei den gleichen Versuchsobjekten viel niedriger aus oder fehlt unter Umständen sogar ganz, wenn eine Kreatinurie besteht (7). Diese Erscheinung findet sich nicht nur im akuten Beginn eines jeden Glykogenzerfalls, sondern auch bei chronischer Dauerkreatinurie, wie Bularczyk (9) zeigen konnte. Ihre Ursache ist noch unklar. Wenn wir früher glaubten, daß es sich um eine Störung der Milchsäurebildung im Muskel handelt, so haben die Untersuchungen von Ruth Lohmann (14) diese Vermutung nicht bestätigt; denn im Muskelbrei verläuft die Milchsäurebildung bei Verwendung von Tieren mit einem Glykogenzerfall genau so wie im Muskelbrei gesunder Tiere. Zu dem gegenwärtigen Stand der Frage der Milchsäurebildung bei der Kreatinurie hat Bularczyk in seiner Arbeit ausführlich Stellung genommen, auf die ich in dieser Beziehung also verweisen kann.

Die Milchsäurebildung ist ein Vorgang von fundamentaler Bedeutung. Handelt es sich dabei doch um die Endstufe des Glykogenabbaues im Muskel und vieler anderer Gewebe. Sie stellt somit einen sehr wichtigen Teil der Zuckerverwertung im Organismus überhaupt dar. Es ist deswegen dringend erforderlich, wenn eine als krankhaft erkannte Störung dieser Funktion nach möglichst vielen Richtungen hin untersucht wird, um unsere Erfahrungen darüber zu erweitern und damit der Möglichkeit näherzukommen, die Ursache dieser krankhaften Störung zu erkennen. In diesem Sinne haben wir uns zunächst der Frage zugewandt: Ist die Störung der Milchsäurebildung bei der Kreatinurie eine Erscheinung, die man nur beim kranken Menschen oder beim Kaninchen trifft, oder findet sie sich auch bei anderen Warmblütern? Denn es ist ja bekannt, daß Stoffwechselkrankheiten bei verschiedenen Tierarten ganz verschieden verlaufen können. Für uns hatte die gestellte Frage aber auch insofern noch ein praktisches Interesse, als uns daran gelegen war zu wissen, welche Versuchstiere sonst noch außer dem Kaninchen für die weitere Untersuchung des Milchsäureproblems verwendbar sind.

Experimenteller Teil.

Methode. Ich verwendete dieselben Methoden der Kreatin-, Blutzucker- und Blutmilchsäurebestimmung, wie sie in unserer Klinik schon seit längerer Zeit üblich sind, und wie sie Bularczyk (9) zuletzt beschrieben hat. Vor jedem Versuch wurde 24 Stunden lang der Harn eines jeden einzelnen Versuchstieres gesammelt und auf seinen Kreatingehalt untersucht.

Bei den Kaninchen, Katzen und Hunden wurden jeweils zwei Versuche am selben Tier durchgeführt, der eine, solange die Tiere gesund waren, der zweite dann, wenn eine Kreatinurie bestand. Nur bei den Ratten wurden die beiden Versuche (ohne und mit Kreatinurie) bei verschiedenen Tieren angestellt, da wegen ihrer geringen Blutmenge zu jeder Blutzucker- und Milchsäurebestimmung jeweils ein Tier getötet werden muß.

Die Ratten wurden vor dem Versuch eine Woche lang in einem gemeinsamen größeren Käfig zusammengehalten und mit Hafer, Brot und gezuckertem Milchreis gut gefüttert, damit sie alle auf den gleichen Ernährungszustand kamen. Es wurden nur Tiere zwischen 120 und 180 g verwendet. 24 Stunden vor dem Versuch wurden die Ratten getrennt und in Isolierkäfige gesetzt, um von jedem einzelnen Tier den Harn zur Kreatinbestimmung gesondert auffangen zu können.

Die Kreatinurie wurde bei dem größten Teil der Tiere durch subcutane Injektion von Urethan hervorgerufen, das ja nach den Untersuchungen von Riesser und Brentano (17) in dieser Richtung sehr wirksam ist. Es bekamen davon die Kaninchen 1 g/kg, die Ratten 1,5 oder 2 g/kg und die Katzen 1 bzw. 1,5 g/kg in 20%iger wässeriger Lösung. Von den beiden Hunden wurde bei Nr. 1 die Kreatinurie durch Pankreasexstirpation erzeugt. Dieses Tier hatte also einen Diabetes mellitus. Bei dem Hund Nr. 2 kam es infolge einer Enteritis mit Durchfall spontan zu Kreatinurie.

Für die Adrenalininjektion wurde l-Adrenalin aus Nebennieren genommen, das jedesmal in einer Konzentration von 1 : 10000 in physiologischer Kochsalzlösung unter Zusatz von einigen Tropfen Salzsäure gelöst wurde. Davon erhielten das Kaninchen, die Katzen und die Hunde 0,1 mg/kg, die Ratten 0,2 mg/kg.

Die Blutuntersuchungen erfolgten immer am nüchternen Tier, das mindestens seit 12 Stunden keine Nahrung mehr zu sich genommen hatte. Die zur Milchsäurebestimmung entnommenen Blutmengen richteten sich nach der Höhe des Milchsäurespiegels bei den verschiedenen Tieren. Bei Kaninchen und Ratten genügen 0,2 ccm Blut. Bei Katzen und Hunden waren 0,5 ccm notwendig. Da der Milchsäurespiegel durch Körperbewegung beeinflußt wird, war es notwendig, die Tiere während des Versuchs möglichst ruhig zu halten. Die Kaninchen wurden zu diesem Zwecke in enge Holzkäfige gesetzt, die stärkere Bewegungen unmöglich machen.

Das Ergebnis meiner Untersuchungen geht aus Tabelle 1 hervor. Ich bin zunächst wieder vom Kaninchen ausgegangen und habe dabei die von Brentano (7) gemachte Beobachtung bestätigen können. Solange das Tier gesund, d. h. frei von Kreatinurie war, stieg auf die Injektion von 0,1 mg/kg Adrenalin die Blutmilchsäure von 52,5 mg% auf 147,5, also um 95 mg% an. Nachdem aber bei dem gleichen Tier durch Urethan eine kräftige Kreatinurie erzeugt worden war, änderte sich auf die gleiche Adrenalindosis hin der Milchsäurespiegel überhaupt nicht mehr.

Zwei Katzen und zwei Hunde zeigten grundsätzlich genau das gleiche Verhalten, wie aus der Tabelle zu ersehen ist. Bei Fehlen von Kreatin im Harn kommt es auf die Adrenalininjektion zu Anstiegen des Blutmilchsäurespiegels, die zwischen 20 und 40 mg% liegen. Während der Kreatinurie fehlt bei drei von diesen Tieren jede Hyperlactacidämie nach Adrenalin. Nur bei Katze Nr. 1 kommt es zu einer minimalen Vermehrung der Blutmilchsäure um 1,5 mg%. Es zeigt sich auch hier wieder, daß das Fehlen der Hyperlactacidämie ganz unabhängig ist von der Ursache, die die Kreatinurie hervorgerufen hatte. Denn die beiden Hunde, von denen Nr. 1 einen Diabetes mellitus und Nr. 2 eine Spontankreatinurie bei Enteritis hatte, zeigen das Phänomen der fehlenden Adrenalinhyperlactacidämie genau so wie die anderen Tiere, die mit Urethan vorbehandelt worden waren.

Tabelle 1. Blutmilchsäure und Blutzucker nach Adrenalin bei Tieren ohne und mit Kreatinurie.

Tierart:	Kaninchen		Katze				Hund			
Gewicht in g:	2700		Nr. 1: 2600		Nr. 2: 2800		Nr. 1: 13200		Nr. 2: 13000	
A. Ohne Kreatinurie.										
Harnkreatin:	0 mg		0 mg		0 mg		0 mg		0 mg	
Zeit nach Adrenalin	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%
Vorher	104	52,5	105	40,0	83	39,0	80	19,5	80	45,0
Injektion von Adrenalin.										
20 Min.	115	77,5	112	44,0	109	48,0	88	25,5	92	41,5
40 „	160	115,0	119	48,0	130	73,5	98	38,0	94	34,5
60 „	183	147,5	141	54,0	174	60,0	110	47,5	98	39,0
90 „	198	131,2	169	66,0	184	55,0	121	56,0	117	50,0
120 „	143	120,0	195	89,0	181	46,0	105	50,0	98	65,0
Anstieg um:	94	**95,0**	90	**49,0**	101	**34,5**	41	**36,5**	37	**20,0**
B. Mit Kreatinurie.										
Harnkreatin:	113 mg		80 mg		66 mg		420 mg		200 mg	
Vorher	107	110,0	118	19,5	135	34,0	471	63,0	91	57,5
Injektion von Adrenalin.										
20 Min.	152	106,2	143	19,5	150	34,0	488	60,0	109	55,0
40 „	190	106,2	164	19,5	175	33,0	505	61,5	116	56,0
60 „	205	103,7	186	19,5	192	34,0	497	63,0	124	56,0
90 „	182	103,7	164	21,0	166	34,0	488	63,0	141	57,5
120 „	176	100,0	159	21,0	161	34,0	476	61,5	119	57,5
Anstieg um:	98	**0**	68	**1,5**	57	**0**	34	**0**	50	**0**

Tierart: Ratte

Zeit nach Adrenalin	Tier Nr.	Harn-Kreatin mg	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%	Tier Nr.	Harn-Kreatin mg	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%	Tier Nr.	Harn-Kreatin mg	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%
A. Ohne Kreatinurie.												
Vorher	1	0	98	85,0					19	0	83	46,2
Injektion von Adrenalin.												
20 Min.	2	0	168	110,0								
40 „	3	0	175	125,0					20	0	154	88,7
60 „	4	0	189	150,0					21	0	175	117,5
90 „	5	0	256	122,5					22	0	154	97,5
120 „	6	0	128	103,7					23	0	134	70,0
Anstieg um:			158	**65**					Anst. um:		92	**71,3**
B. Mit Kreatinurie.												
	(48 Std. n. 2 g/kg Urethan s. c.)				(24 Std. n. 1,5 g/kg Urethan s. c.)				(24 Std. n. 2 g/kg Urethan s. c.)			
Vorher	7	7	103	46,2	13	23	84	46,2	24	11	72	52,5
Injektion von Adrenalin.												
20 Min.	8	16	100	46,2	14	11	114	46,2				
40 „	9	26	91	46,2	15	19	173	48,7	25	11	102	52,5
60 „	10	8	84	46,2	16	12	209	46,2	26	24	118	50,0
90 „	11	9	82	46,2	17	34	251	46,2	27	17	156	52,5
120 „	12	22	75	46,2	18	17	121	48,7	28	10	102	52,5
Anstieg um:		0	**0**		Anst. um:	167	**2,5**		Anst. um:		84	**0**

Eine größere Anzahl von Versuchen sind an Ratten durchgeführt worden und zeigen, daß nach dem Kaninchen die Ratte die größten Differenzen im Verhalten der Adrenalinmilchsäure aufweist, je nachdem, ob sie vor oder während eines Glykogenzerfalls untersucht wird. Im gesunden Zustand finden wir Anstiege der Blutmilchsäure von 65 bzw. 71,3 mg% über den Ausgangswert. Während der Kreatinurie steigt die Blutmilchsäure bei zwei Versuchsgruppen gar nicht und bei einer anderen nur um 2,5 mg% an.

Bei den Ratten Nr. 7—12 fehlt auch jede Adrenalinhyperglykämie. Sie fehlt wahrscheinlich deswegen, weil bei diesen Tieren wohl auch die Leber glykogenfrei war; denn sie kamen noch in Narkose zum Versuch und hatten bis dahin 48 Stunden gehungert.

Mit diesen Versuchen ist unsere erste Frage beantwortet: Außer Mensch und Kaninchen zeigen auch Ratten, Katzen und Hunde das Fehlen der Adrenalinhyperlactacidämie im Glykogenzerfall. Besonders ausgeprägt ist dieses Phänomen bei der Ratte, die daher für Versuchszwecke in dieser Richtung besonders geeignet zu sein scheint.

Wir haben aber auch noch ein zweites Problem in diesem Zusammenhang untersucht. Wir fragten uns nämlich: Bleibt die Hyperlactacidämie im Glykogenzerfall nur dann aus, wenn man Adrenalin als milchsäurebildenden Reiz verwendet, oder fehlt sie auch auf andere Reize hin, die sonst normalerweise zu einer Erhöhung der Blutmilchsäure führen? Aus einer solchen Untersuchung würde sich auch eine Antwort auf die Frage ergeben, ob die Störung des Milchsäurestoffwechsels im Glykogenzerfall lediglich an das Adrenalin gebunden ist, d. h. ob eine veränderte Ansprechbarkeit des Intermediärstoffwechsels spezifisch und ausschließlich dem Adrenalin gegenüber vorliegt, oder ob eine umfassendere Veränderung im gesamten Milchsäurestoffwechsel besteht, ganz unabhängig von dem Reiz, der auf den Milchsäurestoffwechsel wirkt.

In der Tat ist es wahrscheinlich, daß z. B. auch bei Abkühlung als milchsäurebildendem Reiz derselbe Unterschied im Verhalten der Blutmilchsäure bei normalen Tieren einerseits und solchen mit Kreatinurie andrerseits auftritt wie beim Adrenalin. Dafür spricht die Beobachtung v. Fürths (11), der bei abgekühlten Kaninchen im Harn immer dann eine sehr hohe Milchsäureausscheidung fand, wenn sie durch kohlehydratreiche Ernährung (Traubenzuckerfütterungen) vorbereitet worden waren. Die Kälte-Laktazidurie blieb aber aus, wenn die Tiere mit Adrenalin und Hunger vorbehandelt wurden. Sie fehlte auch dann, wenn gut gefütterte, nicht hungernde Kaninchen zu oft hintereinander dem Kälteversuch ausgesetzt wurden. Die Analogie mit unsern Adrenalinversuchen liegt hier darin, daß unter den Umständen, wo eine starke Milchsäureausscheidung auftrat, die Tiere wohl gesund waren und keine Kreatinurie hatten. Bei der anderen Gruppe von Versuchen jedoch, wo die Milchsäure-

ausscheidung ausblieb, lag ohne Zweifel eine Kreatinurie vor. Denn Adrenalin + Hunger bzw. Vorbehandlung durch Abkühlung [Samaras (18)] verursacht ja immer eine länger dauernde Kreatinurie. Allerdings ist es sehr wahrscheinlich, daß die nach Abkühlung auftretenden Stoffwechselstörungen auch nichts anderes sind als ein Adrenalineffekt, bedingt durch körpereigene Adrenalinausschüttung. Denn nach Splanchnicusdurchschneidung kommen Kältehyperglykämie und Kältehyperlactacidämie nicht mehr zustande (11a).

Als Reiz zur Erhöhung der Blutmilchsäure verwendete ich zunächst das Natriumcyanid, von dem Brentano (8) nachgewiesen hat, daß es eine beträchtliche Hyperlactacidämie macht. Das Ergebnis dieser Versuche geht aus Tabelle 2 hervor. Diese ist grundsätzlich genau so angelegt wie Tabelle 1 und bedarf deswegen keiner besonderen Erklärung. Sie enthält lediglich Versuche am Kaninchen. Auch hier sind die Tiere wiederum zweimal untersucht worden, zuerst ohne Kreatinurie (obere Hälfte der Tabelle) und ein zweites Mal während einer Kreatinurie (untere Hälfte der Tabelle). Die Kreatinurie ist auf verschiedene Weise erzeugt worden, die bei jedem Versuch besonders angegeben ist. Die in der Tabelle eingetragene Kreatinmenge entspricht der gesamten Kreatinausscheidung in den letzten 24 Stunden vor dem Versuch in mg, umgerechnet auf 1 kg Tiergewicht.

Wir sehen, daß die subcutane Injektion von Natriumcyanid eine kräftige Hyperlactacidämie macht, solange die Tiere gesund sind. Der Zuwachs der Blutmilchsäure betrug mindestens 25 mg% (Tier Nr. 56) und höchstens 57,5 mg% (Tier Nr. 99). Ganz anders verhielten sich dieselben Tiere während einer Kreatinurie. Jetzt fehlt nicht nur jede Vermehrung der Blutmilchsäure, sondern sie sinkt sogar ganz beträchtlich unter den Ausgangswert ab. Die geringste Senkung betrug 22,5 mg% (Tier Nr. 97), die größte 57,5 mg% (Tier Nr. 99). Der Unterschied in der Reaktionsweise bei Tieren mit und ohne Kreatinurie ist also bei Verwendung von NaCN noch deutlicher als beim Adrenalin. Denn während beim Adrenalin während der Kreatinurie die Hyperlactacidämie lediglich geringer ausfällt als beim gesunden Tier, allenfalls auch ganz fehlt, kehrt NaCN im Glykogenzerfall seine Wirkung auf die Blutmilchsäure geradezu um: Statt eines kräftigen Anstiegs der Blutmilchsäure wie beim gesunden Tier macht es jetzt einen ebenso kräftigen Abfall.

Wir haben weiter als milchsäurebildenden Reiz das Natriumbicarbonat verwendet. Macleod und Mitarbeiter (15) haben nachgewiesen, daß Verabreichung von Alkali bei Tieren eine Steigerung der Milchsäure in Blut und Harn hervorruft. Frank, Leiser und Weiss (10) fanden, daß auch die durch Überventilation erzeugte Alkalose zu einer Erhöhung des Blutmilchsäurespiegels führt. Diese Beobachtungen haben wir bei unseren normalen Tieren bestätigen können: Die intravenöse Injektion von 0,5 g bis 2,0 g/kg $NaHCO_3$ führt bei gesunden Kaninchen jedesmal

Tabelle 2. Blutmilchsäure und Blutzucker nach Natriumcyanid, Natriumbicarbonat und Arbeit bei Kaninchen mit und ohne Kreatinurie.

Hyperlactacidämie erzeugt durch: NaCN.

Kaninchen Nr.:	56. Ass.				60. Ass.		97. Ass.		98. Ass.		99. Ass.	
A. Ohne Kreatinurie.												
Zeit nach Versuchsbeginn	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%
Vorher	118	47,5	91	47,5	98	47,5	113	40,0	109	45,0	103	37,5
Injektion von 2 mg/kg NaCN.												
50 Min.	130	60,0	126	95,0	101	75,0	131	85,0	130	75,0	107	95,0
70 „	134	50,0	126	102,5	112	85,0	122	60,0	123	57,5	103	75,0
90 „	139	72,5	124	65,0	101	45,0	115	47,0	124	45,0	124	57,5
120 „	134	62,5	158	85,0	117	45,0	118	40,0	123	45,0	117	55,0
Differenz gegen Ausgangswert	+ 21	+ **25,0**	+ 67	+ **55,0**	+ 19	+ **37,5**	+ 18	+ **45,0**	+ 21	+ **30,0**	+ 21	+ **57,5**
B. Mit Kreatinurie.												
Kreatinurie, erzeugt durch			Ol. camphorat. 0,16 g/kg		Hunger		Urethan 1 g/kg		Urethan 1 g/kg		Phlorrhizin 3 Tage 0,4 g/kg	
Harnkreatin in mg/kg			11,4		4,5		15,9		16,7		66,6	
Vorher			121	62,5	99	50,0	139	45,0	119	45,0	196	107,5
Injektion von 2 mg/kg NaCN.												
50 Min.			187	60,0	121	50,0	229	45,0	145	35,0	250	113,5
70 „			161	47,5	107	30,0	237	40,0	119	30,0	262	113,5
90 „			137	40,0	116	20,0	246	37,5	121	23,7	235	50,0
120 „			126	25,0	107	20,0	225	22,5	134	21,0	218	50,0
Differenz gegen Ausgangswert			+ 66	− **37,5**	+ 22	− **30,0**	+ 107	− **22,5**	+ 26	− **24,0**	+ 66	+ 6,0 − **57,5**

Tabelle 2 (Fortsetzung).

Hyperlactacidämie erzeugt durch: $NaHCO_3$.

Kan. Nr.:	64. Ass.		65. Ass.		66. Ass.		100b. Ass.		101. Ass.		102. Ass.			
A. Ohne Kreatinurie.														
Zeit	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%
Vorher	116	56,0			107	50,0	142	65,0	136	57,5			103	20,0
Injekt. von:	0,5 g/kg $NaHCO_3$				1 g/kg $NaHCO_3$		1 g/kg $NaHCO_3$		2 g/kg $NaHCO_3$				2 g/kg $NaHCO_3$	
5 Min.					125	105,0	155	90,0						
10 „	118	87,5			137	95,0	162	90,0	154	125,0			119	70,0
15 „					130	125,0	147	102,5						
20 „	121	87,5			121	116,0	140	75,0	163	132,5			117	60,0
30 „	130	70,0			125	95,0	140	60,0						
40 „	125	60,0							186	100,0			112	55,0
60 „	125	60,0							199	100,0			110	40,0
90 „									190	65,0			112	22,0
Differenz gegen Ausgangswert	+ 14	+ **31,5**			+ 30	+ **75,0**	+ 20	+ **37,5**	+ 63	+ **75,0**			+ 88	+ **50,0**

B. Mit Kreatinurie.

Kreatinurie erzeugt durch	Progynon 10000 E.		Progynon 10000 E.		Thyroxin 3 mg/kg		Thyroxin 3 mg/kg		Spontan		Thyroxin 3 mg/kg	
Harnkreatin in mg/kg:	20,9		2,4		60,5		40,3		5,3		38,9	
Vorher	107	45,0	114	55,0	145	70,0	179	116,0	119	70,0	114	45,0
Injektion von:	1 g/kg $NaHCO_3$		1 g/kg $NaHCO_3$		1 g/kg $NaHCO_3$		2 g/kg $NaHCO_3$		1 g/kg $NaHCO_3$		2 g/kg $NaHCO_3$	
5 Min.			144	110,0					94	72,5		
10 „			158	95,0	177	165,0	192	116,0	87	70,0	124	132,5
15 „	100	45,0	154	102,5	168				89	71,0		
20 „	100	54,0		115,0		155,0	205	87,5	94	71,0	116	105,0
30 „			171	115,0					98	72,5		
40 „	105	54,0					179	47,5			119	77,5
60 „							156	45,0			114	47,5
90 „							143	35,0			110	53,0
Differenz												

Tabelle 2 (Fortsetzung).

Hyperlactacidämie erzeugt durch: Arbeit.

Kaninchen Nr:	104. Ass.		111. Ass.		112. Ass.			
A. Ohne Kreatinurie.								
Zeit	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%	Blutzucker mg%	Blutmilchsäure mg%
Vorher			190	* 66,0			99	75,0
			Arbeit				Arbeit	
5 Min.			205	115,0			92	145,0
10 „			222	135,0			113	165,0
15 „			262	140,0			119	165,0
20 „			278	130,0			121	160,0
30 „			260	115,0			115	145,0
40 „							83	155,0
Differenz gegen Ausgangswert			+ 88	+ **74,0**			+ 22	+ **90,0**
B. Mit Kreatinurie.								
Kreatinurie erzeugt durch	Spontan				Spontan		Urethan 1 g/kg	
Harnkreatin in mg/kg	10,0				17,5		20,7	
Vorher	90	45,0			137	65,0	86	60,0
	Arbeit				Arbeit		Arbeit	
5 Min.	95	110,0			159	187,5	95	62,0
10 „	121	125,0			168	165,0	79	77,0
15 „	109	102,5			155	110,0	87	77,0
20 „	100	102,5			168	200,0	81	76,0
30 „	135	132,5			166	165,0	92	76,0
40 „	125	117,5				129,0	86	77,0
Differenz gegen Ausgangswert	+ 45	+ **87,5**			+ 31	+ **135,0**	+ 9	+ **17,0**

* Versuch in Äthernarkose unternommen. Blutzucker vor Narkose 108 mg%, Milchsäure 65 mg%.

zu einer Vermehrung der Blutmilchsäure, die um 31,5—75,0 mg% über den Ausgangswert hinausgeht. Haben dagegen die Versuchstiere einen Glykogenzerfall, so tritt die Alkalihyperlactacidämie nicht mehr mit solcher Regelmäßigkeit in Erscheinung. Von sechs Kaninchen, die eine Kreatinurie hatten, fehlte bei dreien (Nr. 65, 101, 102, erster Versuch), also in 50% der Fälle, die Vermehrung der Blutmilchsäure. Ja bei einem von diesen Tieren (Nr. 101) sehen wir genau das gleiche Verhalten wie bei NaCN: Im gesunden Zustand nach $NaHCO_3$ einen Zuwachs der Blutmilchsäure um 75 mg%, während der Kreatinurie dagegen umgekehrt sogar ein Absinken der Blutmilchsäure um 81 mg%. In drei anderen Kreatinurieversuchen jedoch (Tier Nr. 66, 100b, 102, zweiter Versuch) kam es trotz des Glykogenzerfalls zu kräftigem Anstieg der Blutmilchsäure, der zwischen

60 und 95 mg% über dem Ruhewert lag. Allerdings hatte Tier Nr. 66 eine so minimale Kreatinurie (nämlich nur 2,4 mg/kg), daß dieser Versuch nicht eindeutig verwertet werden kann.

Ein ähnliches Ergebnis erhielten wir, als wir versuchten, durch Muskelarbeit die Blutmilchsäure zu erhöhen. Das erreichten wir in der Weise, daß wir bei den Tieren beiderseits von der Lendenwirbelsäule zwei Nadelelektroden subcutan einführten und nunmehr mit einer Frequenz von 60 pro Minute elektrisch reizten. Die Erhöhung der Blutmilchsäure, die durch die so bedingten Muskelzuckungen hervorgerufen worden war, betrug bei den gesunden Tieren 74 bzw. 90 mg%. Während einer Kreatinurie fiel sie aber kaum anders aus, wie aus Tabelle 2 zu ersehen ist. Es kommt vielmehr auch dabei noch zu Milchsäureanstiegen, die zwischen 17 und 135 mg% über dem Ausgangswert liegen. Die Hyperlactacidämie, die durch Muskelarbeit hervorgerufen wird, kommt also während der Kreatinurie genau so zur Erscheinung wie beim gesunden Tier.

Diese Versuche zeigen somit zunächst einmal, daß das Fehlen der Hyperlactacidämie im Glykogenzerfall nicht ausschließlich bei Verwendung von Adrenalin als milchsäurebildendem Reiz zu finden ist. Das Phänomen ist also nicht spezifisch an das Adrenalin gebunden, sondern tritt noch viel deutlicher in Erscheinung, wenn NaCN zur Erzeugung einer Hyperlactacidämie verwendet wird.

Es geht weiter aus unseren Untersuchungen hervor, daß ein totales Versagen der Milchsäurebildung während des Glykogenzerfalls nicht vorliegen kann. Wenn auch nach Adrenalin oder nach NaCN die sonst normalerweise eintretende Hyperlactacidämie während der Kreatinurie ausbleibt, so sehen wir, daß andererseits $NaHCO_3$ in 50% der Fälle und Muskelarbeit offenbar immer während einer Kreatinurie die gleiche Erhöhung des Blutmilchsäurespiegels hervorruft, wie sie beim gesunden Tier unter dem Einfluß dieser Reize auftritt. Dieses Ergebnis stimmt mit der Beobachtung von Ruth Lohmann (14) überein, die fand, daß die spontan und die durch Coffein stimulierte Milchsäurebildung im Muskelbrei kreatinurischer Ratten genau so verläuft wie diejenige bei gesunden Ratten ohne Kreatinurie.

Diese Beobachtungen aber sprechen dafür, daß das Fehlen der Hyperlactacidämie im Glykogenzerfall nach Adrenalin oder NaCN nicht auf einer Störung der Milchsäurebildung beruhen kann, sondern auf eine beschleunigte Beseitigung von Milchsäure zurückgeführt werden muß, die wahrscheinlich dabei genau in dem gleichen Umfang und mit der gleichen Geschwindigkeit im Muskel gebildet wird wie normalerweise. Schon Bularczyk (9) hat kurz auf diese Möglichkeit hingewiesen. Daß in der Tat die Störung des Milchsäurestoffwechsels während der Kreatinurie offenbar in diesem Sinne zu erklären ist, dafür sprechen die jüngsten Untersuchungen aus unserem Arbeitskreis [Mavros und Brentano (16)].

Wenn also nach Injektion von Adrenalin oder NaCN während einer Kreatinurie ein Anstieg der Blutmilchsäure ausbleibt, so müssen wir nunmehr diese Erscheinung wohl so erklären, daß in diesen Fällen die Milchsäure zwar normal im Muskel entsteht, aber beschleunigt und in größerem Umfang von der Leber aus dem Blute abgefangen und assimiliert wird. Wenn diese Erscheinung bei Verwendung von $NaHCO_3$ als milchsäurebildendem Reiz in 50% der Fälle und bei elektrischer Muskelreizung immer ausbleibt, so spielen hier wohl besondere Umstände eine Rolle und es scheint, als ob Alkalose bzw. Muskelarbeit Bedingungen schaffen, die die Milchsäureassimilation durch die Leber erschweren.

Zusammenfassung.

1. Im Glykogenzerfall, erkennbar am besten an der obligatorischen Begleitkreatinurie, fehlt beim Menschen und beim Kaninchen die Erhöhung der Blutmilchsäure, die sonst unmittelbar nach subcutaner Injektion von Adrenalin eintritt. In unserer Arbeit wird nachgewiesen, daß dieses Phänomen in gleicher Weise bei Katzen, Hunden und am ausgeprägtesten bei Ratten im Glykogenzerfall zu finden ist.

2. Das Fehlen der Hyperlactacidämie ist aber nicht ausschließlich an das Adrenalin als milchsäurebildenden Reiz gebunden. Es tritt noch ausgeprägter in Erscheinung bei Verwendung von NaCN: Bei gesunden Tieren starke Erhöhung der Blutmilchsäure, bei Tieren mit Kreatinurie gerade umgekehrt ein ebenso starkes Absinken der Blutmilchsäure. Auch bei $NaHCO_3$ bleibt in 50% die Hyperlactacidämie aus, die sonst nach intravenöser Injektion dieser Substanz einzutreten pflegt.

In den anderen 50% der $NaHCO_3$-Versuche bleibt jedoch im Glykogenzerfall die Hyperlactacidämie ganz normal. Auch Muskelarbeit führt während der Kreatinurie zu ganz ähnlicher Erhöhung der Blutmilchsäure wie in gesundem Zustand. Es wird versucht, für diese Ausnahmen eine Erklärung zu geben.

Literatur.

1) Brentano: Verh. dtsch. Ges. inn. Med., 47. Kongr. (1935), S. 441. — 2) Brentano: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **155**, 21 (1930); **163**, 156 (1931); Dtsch. med. Wschr. **1932**, I, S. 699. — 3) Brentano: Verh. dtsch. Ges. inn. Med., 48. Kongr. (1936), S. 422; Z. exper. Med. **98**, 677 (1936). — 4) Brentano: Klin. Wschr. **18**, I, 82 (1939). — 5) Brentano: Z. Klin. Med. **135**, 495 (1939). — 6) Brentano: Ebenda **124**, 237 (1933); Dtsch. med. Wschr. **1933**, I, Nr. 12. — 7) Brentano: Z. Klin. Med. **120**, 249 (1932). — 8) Brentano: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **163**, 156 (1931). — 9) Bularczyk: Z. exper. Med. **102**, 600 (1938). — 10) Frank, Leiser u. Weiss: Z. Klin. Med. **114**, 219 (1930). — 11) v. Fürth: Biochem. Z. **64**, 156 (1914). — 11a) Geiger: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **121**, 67 (1927); **170**, 296 (1933). — 12) Lohmann, Ruth: Klin. Wschr. **16**, II, 1682 (1937). — 13) Lohmann, Ruth: Z. Klin. Med. **135**, 505 (1939). — 14) Lohmann, Ruth: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 239 (1936). — 15) Macleod u. Mitarbeiter: Amer. J. Physiol. **42**, 460 (1917); **47**, 189 (1919). — 16) Mavros u. Brentano: Z. Klin. Med. **135**, 528 (1939). — 17) Riesser u. Brentano: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **155**, 1 (1930). — 18) Samaras: Z. exper. Med. im Druck.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Greifswald.

Fortgesetzte Beobachtungen am bestrahlten Zellkern*.

Von

Kurt Wottge.

Mit 7 Textabbildungen (= 13 Einzelbildern).

(Eingegangen am 8. Juni 1939.)

In einer vorangegangenen Arbeit des Instituts [1] wurde am Kern des Flußmuscheleies ** gezeigt, daß ultraviolettes Licht im Kerninnern Eiweißkoagulationen hervorruft, welche im Dunkelfeld als Trübungen und Flockungen sichtbar gemacht werden können. Einige orientierende Versuche ergaben, daß auch Röntgenstrahlen diesen Effekt hervorbringen. Diesen letzteren Befunden haftete aber insofern eine erhebliche Unsicherheit an, als es aus bestrahlungstechnischen Gründen nicht gelang, den Ablauf der Röntgenstrahlenwirkung an ein und demselben Zellkern im Dunkelfeld zu studieren, wie es bei den Ultraviolettversuchen möglich gewesen war. Während es nämlich auch in der dünnen Schicht eines mikroskopischen Präparates leicht gelang, die zur Koagulation erforderlichen Ultravioletttdosen allein durch die direkte Strahlung in einem Zellkern zur Absorption zu bringen, war das bei den Röntgenstrahlen nicht der Fall. Hier waren mit den zur Verfügung stehenden Apparaten ausreichende Strahlendosen im einzelnen Zellkern nur unter Ausnutzung der Streustrahlung zu erzielen, welche das Mehrfache der direkten Strahlung ausmachen kann und am einfachsten aus dem umgebenden Gewebe erhalten wird, wenn die Eizelle bei der Bestrahlung im Eierstock verbleibt. Unter diesen Umständen aber konnten nur Vergleiche des durchschnittlichen Aussehens der Zellkerne aus der bestrahlten und der unbestrahlten Eierstockhälfte vorgenommen werden. Das Ergebnis dieser Vergleiche deutet zwar mit Bestimmtheit darauf hin, daß auch Röntgenstrahlen im Innern des Zellkerns Koagulationswirkungen zeigen, die erwünschte Sicherung dieses Hinweises aber ist bei der genannten Versuchsanordnung nicht zu erreichen, weil die Eizellen ein und desselben Eierstocks schon unter sich erhebliche Verschiedenheiten im Dunkelfeldbild des Kerninnern aufweisen können und spontane Trübungen nicht selten vorkommen.

Eine Sicherung des Befundes der durch Röntgenstrahlen im Zellkern erzeugten Eiweißkoagulationen ist aber für die Theorie der biologischen

* Ausgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

** Die Muschel wurde in der ersten Arbeit irrtümlich als Teichmuschel bezeichnet, in Wirklichkeit handelte es sich um die nahe verwandte Flußmuschel (Unio tumidus).

[1] Wels, P.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 113 (1938).

Strahlenwirkungen von erheblichem Interesse. Hier ergibt sich die Möglichkeit, durch unmittelbare Beobachtung einer Strahlenwirkung in der Zelle ein Bindeglied zu finden zwischen den im Reagensglas an Eiweißlösungen gut studierten kolloidchemischen Wirkungen der Röntgenstrahlen und der Hemmung des Wachstums durch diese Strahlen bzw. der spezifischen Röntgenstrahlenempfindlichkeit rasch wachsender Gewebe, auf der die Anwendung der Röntgenstrahlen bei der Behandlung von Geschwülsten beruht. Die kausale Verknüpfung der Grundvorgänge am bestrahlten Eiweiß mit der Reaktion der bestrahlten Zelle ist das Ziel jahrelanger Arbeit in unserem Institut gewesen [2].

Auch die vorliegende Untersuchung verfolgt dieses Ziel. Ich habe die Bestrahlungsanordnung durch eine Paraffinunterlage so abgeändert, daß die Eikerne auch im mikroskopischen Präparat genügend Streustrahlung erhalten. Ich habe ferner durch Änderung des Ionenmilieus die Strahlenempfindlichkeit des Kerninnern zu erhöhen gesucht. Durch diese Änderungen ließ sich der erstrebte Nachweis der Eiweißkoagulation im Kerninnern durch Photographie ein und desselben Eikerns vor und nach der Bestrahlung auch bei den Röntgenstrahlen führen. Es wurden bei diesen Untersuchungen ferner einige Befunde erhoben, welche nicht im ursprünglichen Plan der Arbeit lagen. Sie betreffen die Permeabilität der Kernmembran. Bei allen diesen Untersuchungen war ich bemüht, wahrscheinlich zu machen, daß die beobachteten Veränderungen des Eikerns schon nach solchen Strahlendosen und unter solchen Bedingungen erfolgen, welche mit dem Leben der Keimzellen noch vereinbar sind. Zu diesem Zweck bestrahlte ich Spermatozoen der Flußmuschel unter den gleichen Bedingungen und beobachtete am Ende der Bestrahlung ihre Beweglichkeit.

Methodik.

1. Herstellung der Präparate und photographische Technik.

Die Eier wurden entweder unmittelbar aus dem aufgeschnittenen Eierstock mit der Pipette auf den Objektträger gebracht oder vorher für 5—10 Minuten in wenig destilliertem Wasser oder einer dünnen Calciumchloridlösung ($^1/_{100000}$) aufgeschwemmt. Das aufgelegte Deckglas wurde zur Verhinderung des Eintrocknens mit weißer säurefreier Vaseline umrandet. Das Dunkelfeldbild des Eikernes bleibt in solchen Präparaten 2 Stunden und mehr unverändert.

Die Dunkelfeldbeleuchtung wurde wie in der ersten Arbeit mit dem Kardioidkondensor der Firma Zeiss hergestellt. Als Lichtquelle diente die „Mipholа-Lampe a. R."

Optik und photographisches Zubehör: Apochromat 20 ×, Kompensationsokular 10 × (zum Beobachten), Photookular Winkel-Zeiss 12 × (zum Photographieren), Balgauszugkamera mit Momentverschluß in Vertikalstellung, großes L-Stativ von Zeiss mit mikrophotographischem Tubus, der eine Beobachtung des Objektes bis zum Zeitpunkt der Aufnahme ermöglicht. Silbereosinplatte von Perutz.

[2] Zusammenfassung bei P. Wels: Strahlenther. **60**, 355 (1937).

Bei der in allen Versuchen benutzten Kameralänge von 25 cm war die Vergrößerung 240fach; die Belichtungszeit betrug im Durchschnitt 60 Sekunden.

Für jeden Versuch wurden zwei Präparate angefertigt. Das eine war für die Bestrahlung bestimmt, das andere wurde vor den Strahlen geschützt, befand sich aber sonst unter möglichst gleichen Bedingungen wie das erste (s. folgenden Abschnitt). Beide Präparate wurden vor der Bestrahlung mit Hilfe eines Kreuztisches durchmustert und in jedem Präparat mehrere geeignete* Kerne photographiert, nachdem ihre Lage durch Noniusablesung festgestellt und notiert worden war. Hierdurch war es möglich, dieselben Kerne nach der Bestrahlung ohne Schwierigkeit wiederzufinden und erneut zu photographieren.

Fokus
×

2. Bestrahlungstechnik.

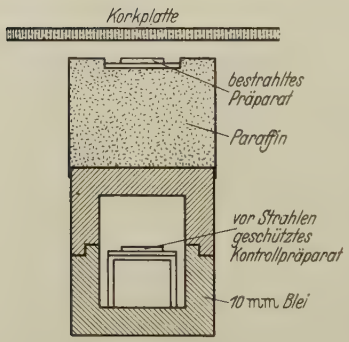


Abb. 1.
Schematische Darstellung der Bestrahlungsanordnung.

Abb. 1 zeigt die Bestrahlungsanordnung, insbesondere die Anordnung zur Ausnutzung der Streustrahlung. Diese entsteht in dem Paraffinblock, welcher der Bleibüchse aufgegossen ist und trifft das Präparat durch den dünnen Objektträger von unten her. Das Kontrollpräparat ist durch 10 mm Blei allseitig vor den Röntgenstrahlen geschützt. Zur Vermeidung einer Erwärmung des bestrahlten Präparates wurden folgende Maßnahmen ergriffen: 1. Die Bleibüchse samt Paraffinblock wurde bis zum oberen Rand in Wasser gesetzt. 2. Die von der Röhre kommende Wärmestrahlung wurde durch eine Korkplatte abgeschirmt. 3. Es wurde durch einen Tischventilator ständig ein starker Luftstrom über das Präparat geblasen**.

Die Effektivspannung betrug 40 Kilovolt, die Röhrenstromstärke 6 Milliamp., der Abstand des Fokus vom Präparat 7,5 cm, die Bestrahlungszeit überall gleichmäßig 45 Min.

Versuchsergebnisse.

1. Beobachtungen über Permeabilitätsänderungen der Kernmembran.

Das Dunkelfeldbild des Flußmuscheleies und seines Kerns ist in der ersten Arbeit ausführlich beschrieben worden.

Es sei hier wiederholt, daß das Kerninnere bei schwacher Vergrößerung optisch leer erscheint, d. h. völlig schwarz aussieht, daß man aber bei stärkerer Vergrößerung darin zahlreiche Körnchen in lebhafter Molekularbewegung wahrnimmt, was darauf hindeutet, daß der Kern flüssig ist. Im dunklen Kern hebt sich das scharf konturierte Kernkörperchen ab, welches von einem feineren, mehr oder weniger weit zur Kernperipherie sich erstreckenden Strukturgebilde umgeben ist.

---

* Vgl. die erste Arbeit S. 120.

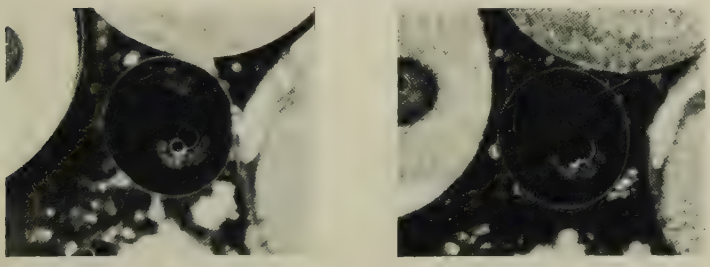
** Eine Begünstigung der Eintrocknung des Präparates, welche ja trotz der sorgfältigen Vaselinumrandung bei starkem Luftstrom immerhin möglich wäre, wurde dadurch verhindert, daß über den Wassertopf, in welchen die Anordnung der Abb. 1 eingesetzt war, eine Cellophanmembran gebunden wurde.

Platzt das Ei unter dem Druck des Deckglases, so tritt der Kern aus und nimmt dann rasch an Größe zu. Diese Größenzunahme dürfte am einfachsten dadurch zu erklären sein, daß der Kern beim Austritt aus dem Ei in die Umgebungsflüssigkeit in ein Milieu geringeren osmotischen Druckes gelangt, wo er nun unter der Wirkung seines osmotischen Innendruckes Wasser einsaugt und dadurch eine pralle Füllung erhält.

Das wird auch dann der Fall gewesen sein, wenn die Eier nicht in Wasser oder dünner Calciumchloridlösung aufgeschwemmt wurden, sondern das Präparat

a Abb. 2. b

a) Freier Kern im Muschelwasser vor der Bestrahlung.
b) Derselbe Kern nach 45 Min. Röntgenbestrahlung; Schrumpfung infolge Permeabilitätszunahme der Kernmembran.



a b

Abb. 3. Unbestrahltes Kontrollpräparat zu Abb. 2.
a) Freier Kern vor Beginn der Bestrahlung des Kernes in Abb. 2.
b) Derselbe Kern am Ende der Bestrahlungszeit; keine Spontanveränderung.

lediglich durch unmittelbare Entnahme eines Tropfens aus dem Eierstock hergestellt wurde; denn dann liegen die Eier in einer Flüssigkeit, welche ein Gemisch aus Muschelblut und dem in der Muschel enthaltenen Flußwasser darstellt. Die Gefrierpunktserniedrigung dieser beim Öffnen der Muschel auslaufenden Flüssigkeit betrug $-0{,}11^0$, während ein aus dem Ovarium durch Verreiben mit Quarzsand und hydraulisches Abpressen bei 100 Atm. hergestellter Preßsaft eine Gefrierpunktserniedrigung von $-0{,}21^0$C aufwies. Dieser Unterschied war bei 5 verschiedenen Versuchen mit nur geringer Abweichung (etwa $-0{,}01^0$C) feststellbar.

Offenbar ist die Kernhülle eine semipermeable Membran für die im Innern enthaltene Salzlösung.

Wird nun ein solcher vollgesogener freier Kern 45 Min. lang in der angegebenen Weise mit Röntgenstrahlen bestrahlt, so zeigt er deutliche Schrumpfungserscheinungen (Abb. 2a und b), während ein nicht bestrahlter, aber sonst unter gleichen Bedingungen gehaltener Kern während dieser Zeit unverändert bleibt (Abb. 3a und b). Man hat den Eindruck, daß der Kerninhalt ausläuft und die Kernmembran zusammenfällt, ähnlich wie ein prall aufgeblasener Kinderluftballon beim Undichtwerden der Hülle zusammenfällt. Das ist nur so zu erklären, daß die Röntgenstrahlen die Permeabilität der Kernmembran für die Binnensalze steigern und daß diese mit dem Wasser den Kern verlassen. Je stärker der Kern gefüllt ist, desto leichter muß die Permeabilitätssteigerung bemerkbar werden. Die freien Eikerne sind daher ein besonders günstiges Objekt für diese Versuche. Solche Permeabilitätssteigerungen durch Röntgenstrahlen wurden bereits in einer früheren Arbeit [3] des Instituts an roten Blutkörperchen eingehend untersucht. Dort ist auch weitere Literatur über dieses Gebiet angegeben. Permeabilitätssteigerungen der Kernmembran sind, soweit ich sehe [4], bei Röntgenbestrahlung bisher nicht beobachtet worden. Sie dürften nicht ohne Belang für den Wirkungsmechanismus der Röntgenstrahlen in der lebenden Zelle sein.

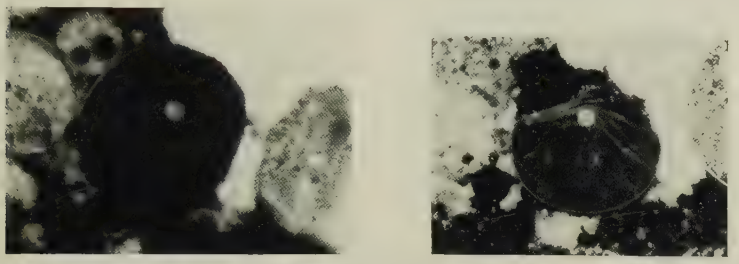
2. Beobachtungen über Trübungen des Kerninhalts.

Sind die Eier, wie in der soeben beschriebenen Versuchsreihe 1, im Eigengewebssaft der Muschel suspendiert, so lassen sich innerhalb der Zeiten, in welchen keine Spontanveränderungen der Kerne eintreten (2 Stunden, s. Abschnitt Methodik), mit Röntgenstrahlen keine Trübungen des Kerninhalts erzielen. Der Kern in der Abb. 2b ist zwar durch die Permeabilitätssteigerung der Kernmembran geschrumpft, der zurückgebliebene Kerninhalt aber ist ungetrübt. Ich versuchte deshalb durch Verminderung des Salzgehalts die Labilität der Eiweißkörper im flüssigen Kerninhalt zu erhöhen und schwemmte zu diesem Zweck die Eier in destilliertem Wasser auf. Daß hierdurch die erwünschte Wirkung erzielt wird, zeigte sich sogleich an einer augenfälligen Veränderung des Kernkörperchens: während dieses bei Aufschwemmung der Eier im Eigengewebssaft, wie auch in isotonischer Kochsalz- oder Ringerlösung, im Dunkelfeld zwar scharf konturiert, aber innen fast optisch leer ist (vgl. die 1. Arbeit, S. 118), tritt es bei Aufschwemmung in Wasser als hell leuchtendes Gebilde hervor; es sieht wie geronnen aus (Abb. 4 und 5). Am flüssigen Kerninhalt wird ein solcher Gerinnungseffekt dagegen nicht bemerkbar. Daß aber auch hier die Eiweißkörper durch das eingesogene destillierte Wasser in einen Zustand größerer Labilität geraten sind, zeigt sich sofort bei der Röntgen-

[3] Wels, P., u. F. Lehmann: Pflügers Arch. **213**, 628 (1926). — [4] Zusammenfassung bei Duggar, B. M.: Biological Effects of Radiation, New York u. London, 1936.

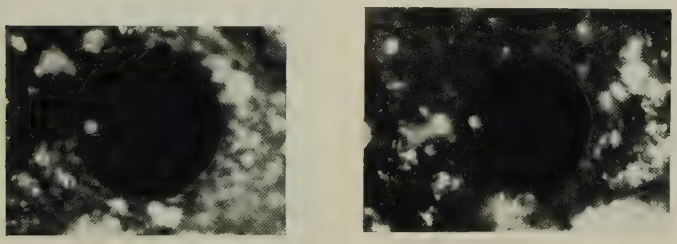
bestrahlung: Der ganze Kerninhalt trübt sich jetzt unter dem Einfluß der Strahlen deutlich (Abb. 4b), während ein unbestrahlter Kontrollkern ungetrübt bleibt (Abb. 5b). Zugleich ist in Abb. 4b wieder das Zusammenfallen des Kerns und Faltung der teilweise entleerten Kernhülle erkennbar.

Die Aufschwemmung in destilliertem Wasser hatte aber den Nachteil, daß infolge der vergrößerten Differenz des osmotischen Druckes die Kerne nach einiger Zeit so anschwollen, daß ein erheblicher Teil von ihnen platzte und völlig auslief. Das war besonders bei den unbestrahlten Kernen der



a Abb. 4. b

a) Freier Kern in destilliertem Wasser vor der Bestrahlung.
b) Derselbe Kern nach 45 Min. Röntgenbestrahlung; Schrumpfung und Trübung.

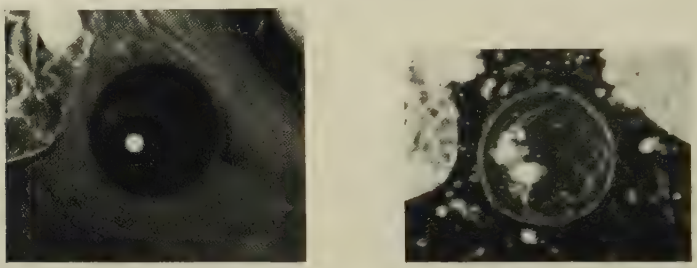


a b

Abb. 5. Unbestrahltes Kontrollpräparat zu Abb. 4.
a) Freier Kern vor Beginn der Bestrahlung des Kernes in Abb. 4.
b) Derselbe Kern am Ende der Bestrahlungszeit; geringe Volumabnahme, keine Trübung.

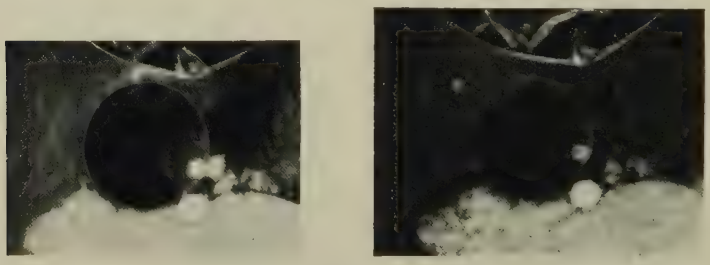
Fall, während die unter dem Einfluß der Röntgenstrahlen entstehenden Gerinnungen im Kerninnern und die Permeabilitätssteigerung der Kernmembran für die Binnensalze ein Anschwellen des Kernes bis zum Platzen verhinderte. Es waren deshalb zwar gute Bestrahlungsbilder, aber keine geeigneten Kontrollpräparate zu gewinnen. Auch in dem Kontrollkern der Abb. 5b ist während der Bestrahlungszeit schon eine gewisse Volumverminderung des ursprünglich stark überdehnten Kernes (Abb. 5a) zu sehen.

Außerdem strebte ich an, die permeabilitätssteigernde Wirkung der Strahlen auf die Kernmembran bei diesen Versuchen nach Möglichkeit zu verhindern, weil sie bei Untersuchungen, die sich lediglich auf die kolloidchemische Beschaffenheit des Kerninnern richten, nur einen störenden Einfluß hat. Als geeignetes Suspensionsmittel erwies sich eine stark verdünnte Calciumchloridlösung (1 : 100000). In dieser platzten die Kontrollkerne nicht, sondern blieben während der Bestrahlungszeit in ihrer Größe unverändert; auch die Permeabilitätssteigerung bei der Bestrahlung der



a Abb. 6. b

a) Freier Kern in $CaCl_2$-Lösung 1/100000 vor der Bestrahlung. (Umgebung etwas verwischt, da das frisch hergestellte Präparat noch im Fluß ist.)
b) Derselbe Kern nach 45 Min. Röntgenbestrahlung; starke Trübung und gröbere Flocken im Kerninnern.



a b

Abb. 7. Unbestrahltes Kontrollpräparat zu Abb. 6.
a) Freier Kern vor Beginn der Bestrahlung des Kernes in Abb. 6.
b) Derselbe Kern am Ende der Bestrahlungszeit; keine Spontanveränderung.

Kerne blieb aus oder wurde jedenfalls nicht an der Schrumpfung des Kernes erkennbar (Abb. 6 und 7). Andererseits übt diese dünne Calciumlösung den gleichen oder sogar einen stärkeren labilitätserhöhenden Einfluß auf die Eiweißkörper des Kerninnern aus wie destilliertes Wasser, was wiederum an der Gerinnung des Kernkörperchens (Abb. 6a und 7a) erkennbar wird. Bestrahlt man einen solchen Kern 45 Min. lang mit Röntgenstrahlen, so tritt der eiweißkoagulierende Effekt der Bestrahlung am flüssigen Kerninhalt sehr deutlich hervor. Der ganze Kerninhalt trübt sich und weist an einzelnen Stellen gröbere Flockungen auf (Abb. 6b).

Bemerkungen und Ergänzungen zu den Versuchsergebnissen.

I.

Es ist schon mehrfach versucht worden, die bei der Bestrahlung am Eiweiß ablaufenden kolloidchemischen Grundvorgänge in der lebenden Zelle zu erfassen. Besonders zu erwähnen sind hier die Arbeiten von Nadson[5] sowie eine ungefähr gleichzeitig durchgeführte Untersuchung von Zuelzer und Philipp[6]. Auf diese Arbeiten ist in der ersten Mitteilung eingegangen worden. Eine Anzahl weiterer Arbeiten ist zusammengefaßt und kritisch besprochen bei Duggar (l. c.[4], Kap. XVIII). Das Ergebnis dieser Arbeiten läßt sich dahin zusammenfassen, daß sowohl die Röntgenstrahlen wie auch die verschiedenen Strahlenarten, welche von radioaktiven Stoffen ausgehen, nach einer anfänglichen Verflüssigung des Protoplasmas eine rasch zunehmende Konsistenzvermehrung verursachen, was namentlich an Pflanzenzellen und Protozoen durch Untersuchung der Protoplasmaströmung und durch Untersuchung der Viskosität mittels Beobachtung der Brownschen Bewegung oder durch Zentrifugenmethoden erkannt wurde. „The final effect of radiation is to cause a coagulation" — eine Feststellung, welche den Strahleneffekt in der lebenden Zelle letzten Endes auf kolloidchemische Reaktionen an den Zellbaustoffen zurückführt, die für den Spezialfall des Lichtes schon in den alten Untersuchungen von Bovie[7] am Eiweiß beobachtet worden sind.

Bei den in der vorliegenden Arbeit im besonderen untersuchten Röntgenstrahlen ist seit jeher der Kern der hauptsächlich interessierende Zellbestandteil gewesen. Ich möchte den Hauptfortschritt, der durch das von uns benutzte Objekt und durch die Dunkelfeldmethode erreicht worden ist, darin sehen, daß der Koagulationsvorgang im Innern des Zellkerns unmittelbar der Anschauung zugänglich gemacht werden kann. Am flüssigen Kerninhalt läßt sich die durch Röntgenbestrahlung hervorgerufene Eiweißkoagulation im Dunkelfeld in ähnlicher Weise sichtbar machen wie das an Eiweißlösungen mit der auf dem gleichen Prinzip beruhenden Ultramikroskopie schon vor Jahren durch Wels und Thiele[8] geschehen ist.

II.

In der ersten Mitteilung über die Beobachtungen am bestrahlten Zellkern und in einer früheren Übersicht[2] über eine Reihe von Arbeiten unseres Institutes hat P. Wels den Zusammenhang zwischen den chemischen Wirkungen der Strahlen und den Koagulationserscheinungen am Eiweiß ausführlich erörtert. Er kommt auf Grund von Überlegungen, welche von dem Einfluß des Ionenmilieus auf die Strahlenwirkungen ausgehen, zu dem Schluß, daß die vom Ionenmilieu im wesentlichen unabhängigen struktur-

[5] Nadson, G. A.: Biochem. Z. **155**, 381 (1925); **163**, 457 (1925). — [6] Zuelzer, M., u. E. Philipp: Strahlenther. **20**, 737 (1925). — [7] Bovie, W. T.: Soil Sci. **1913**, S. 25; Chemiker-Z. **1913**, S. 1486. — [8] Wels, P., u. A. Thiele: Pflügers Arch. **209**, 49 (1925).

chemischen Umwandlungen des Eiweißmoleküls das Ursprüngliche, die vom Ionenmilieu deutlich abhängigen Koagulationsvorgänge dagegen nur eine Folgeerscheinung des chemischen Grundvorganges seien. Er zieht die Parallele zur fermentativen Milchgerinnung, bei welcher die chemische Umwandlung des Caseinogens in die Caseine ebenfalls das Primäre, die von der Gegenwart von Kalksalzen abhängige Ausflockung der Caseine dagegen das Sekundäre ist.

Die durch Strahlen bewirkte chemische Umwandlung des Eiweißmoleküls und seiner Bausteine ist summarisch erfaßbar durch die Fluoreszenzänderung, welche die Stoffe bei der Bestrahlung erfahren. Das trifft insbesondere für die Bestrahlung mit ultraviolettem Licht zu. Dem Koagulationsvorgang, der durch Röntgenstrahlen ausgelöst wird, liegen aller Wahrscheinlichkeit nach ebenfalls chemische Umwandlungen des Eiweißmoleküls zugrunde, wie denn überhaupt auch für alle anderen physikalischen Eingriffe (Hitze, Schütteln) nicht gut vorstellbar ist, daß das Eiweiß aus seiner Lösung ausfällt, ohne vorher Veränderungen seiner chemischen Struktur durchgemacht zu haben. Wahrscheinlich ist es aber, daß sehr verschiedene Strukturveränderungen des Eiweißes zu dem gleichen Endeffekt der Koagulation führen können und daß deshalb die Strukturumwandlungen, welche der Koagulation ursächlich übergeordnet sind, je nach der Art des einwirkenden Agens sich wesentlich voneinander unterscheiden können. Insbesondere ist wegen der Verschiedenheit des primären Absorptionsvorganges in der Materie als sicher anzunehmen, daß Röntgenstrahlen andere Strukturveränderungen erzeugen können als ultraviolettes Licht.

Nun sind keineswegs alle strukturchemischen Umwandlungen an Änderungen der Fluoreszenz erkennbar, und es könnte dieser Umstand zur Erklärung der Tatsache benutzt werden, daß sowohl an Eiweißlösungen wie in der Zelle der Fluoreszenzeffekt bei den Röntgenstrahlen weniger hervortritt als beim ultravioletten Licht, obwohl auch die Röntgenstrahlen zur Koagulation führen. Wels hatte gefunden, daß ultraviolettes Licht am Kernkörperchen eine überaus deutliche Fluoreszenzsteigerung hervorruft, noch bevor Koagulationen im Kerninnern bemerkbar werden. Röntgenstrahlen rufen wohl nach sehr hohen Dosen ebenfalls Fluoreszenzsteigerungen hervor, doch ist das Verhältnis zu den Koagulationen offenbar ein anderes. Ich habe in der vorliegenden Arbeit in vielen Fällen die Fluoreszenz der Kernkörperchen an den röntgenbestrahlten Kernen geprüft und diese auch bei Belichtung mit sehr hohen Intensitäten der Erregerstrahlung (10-Amp.-Bogenlampe) niemals sicher verändert gefunden, obwohl bereits deutliche Trübungen des Kerninnern im Dunkelfeld erkennbar waren.

Zwischen der Ultraviolettwirkung und der Röntgenstrahlenwirkung am biologischen Objekt bestehen also zweifellos gewisse Unterschiede. Das ist schon in den Arbeiten Dessauers[9] zum Ausdruck gebracht

[9] Dessauer, F.: 10 Jahre Forschung auf dem physikalisch-medizinischen Grenzgebiet. Leipzig 1931.

worden, in welchen er seine später vielfach mißverstandene Punktwärmehypothese der Röntgenstrahlenwirkung entwickelt, und kommt auch neuerdings wieder zum Ausdruck in einer sehr beachtenswerten Arbeit von Langendorff und Sommermeyer[10], die mit ganz anderer Untersuchungstechnik die Wirkungsverschiedenheit des ultravioletten Lichtes und der Röntgenstrahlen an Drosophilaeiern darlegen.

III.

Die zur Erzielung der Trübungen im Kern des Flußmuscheleies notwendigen Röntgenstrahlendosen betrugen ungefähr das 10fache der am Menschen anwendbaren. Das besagt jedoch nichts gegen die biologische Verwertbarkeit der erzielten Resultate. Es ist seit langem bekannt, daß die Zellen der Kaltblüter und insbesondere die der wirbellosen Tiere viel resistenter gegenüber den Röntgenstrahlen sind als die Zellen der Säugetiere und Vögel. Auch diejenigen Röntgenstrahlendosen, welche die Mutationen bei der Drosophila auslösen, liegen weit außerhalb der zu Heilzwecken am Menschen angewandten, ohne daß hieraus unmittelbare Einwände gegen die allgemein biologische Bedeutung der Mutationsbefunde erhoben werden könnten. Entscheidend ist immer nur die Frage, ob die durch Röntgenstrahlen gesetzten Veränderungen noch mit dem Leben desjenigen Objektes vereinbar sind, an dem sie beobachtet wurden.

Unmittelbare Kennzeichen dafür, daß die untersuchten Eikerne nach der Bestrahlung noch lebten, konnten in den Versuchen naturgemäß nicht erhalten werden. Es werden aber kaum Gründe gegen die Annahme geltend gemacht werden können, daß die männlichen und die weiblichen Keimzellen keinen wesentlichen Unterschied in der Empfindlichkeit gegenüber Röntgenstrahlen aufweisen. Die Erhaltung der Eigenbewegung von Flußmuschelspermatozoen, die unter gleichen Bedingungen bestrahlt wurden wie die Eikerne, dürfte deshalb ein genügend verläßliches Kriterium dafür abgeben, daß die zur Erzeugung der Trübungen im Kerninnern notwendigen Röntgenstrahlendosen nicht größenordnungsmäßig höher liegen als diejenigen, welche mit dem Leben des Eikerns noch vereinbar sind.

Wie ich schon in der Einleitung hervorhob, habe ich deshalb Versuche angestellt, bei welchen der Einfluß der Röntgenstrahlen auf die Beweglichkeit der Flußmuschelspermatozoen unter den gleichen Bedingungen untersucht wurde, denen auch die Eikerne unterworfen waren. Es wurden in diesen Kontrollversuchen aus den Keimdrüsen männlicher Muscheln in gleicher Weise Präparate angefertigt wie aus den Keimdrüsen der weiblichen Muscheln in den Hauptversuchen. Nach einer Bestrahlung von 45 Min. Dauer, wie sie in den Hauptversuchen angewandt wurde, zeigte sich keine merkliche Verringerung der Spermatozoenbeweglichkeit am bestrahlten

[10] Langendorff, H., u. K. Sommermeyer: Fundamenta radiologica 4, 196 (1939).

Präparat gegenüber dem vor den Strahlen geschützten Vergleichspräparat, auch wenn die Bestrahlung in destilliertem Wasser oder in dünner Calciumchloridlösung vorgenommen wurde. Erst nach 90 Min. langer Bestrahlung war die Beweglichkeit deutlich herabgesetzt. In der mit Calciumchlorid versetzten Lösung war die Beweglichkeit nach dieser Bestrahlungszeit erloschen. Natürlich ist die Beurteilung der Spermatozoenbeweglichkeit nach dem Eindruck, den man bei bloßer Betrachtung des Präparates im Mikroskop erhält, keine quantitative Methode. Sie reicht aber, wie schon hervorgehoben wurde, aus für die Gewinnung eines Urteils, ob die angewandte Strahlendosis größenordnungsmäßig innerhalb der mit dem Leben vereinbaren Grenzen liegt. Diese Frage ist für die vorgelegten Versuche am Eikern zu bejahen.

Zusammenfassung.

1. In einer früheren Untersuchung wurde für ultraviolettes Licht gezeigt, daß die koagulierende Wirkung auf das Eiweiß, welche als einer der kolloidchemischen Grundvorgänge bei den biologischen Strahlenwirkungen anzusehen ist, sich mit der Dunkelfeldmethode am Kern des bestrahlten Flußmuscheleies sichtbar machen läßt. In der vorliegenden Arbeit wird der gleiche Nachweis für die Röntgenstrahlen geführt. Es wird wahrscheinlich gemacht, daß die im Dunkelfeld sichtbaren Koagulationsvorgänge schon nach Strahlendosen erfolgen, welche mit dem Leben der bestrahlten Zelle noch vereinbar sind.

2. Bei diesen Feststellungen wird ein Nebenbefund erhoben: Die Permeabilität der Kernmembran nimmt nach Röntgenbestrahlung zu.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität München.

Über die Reizbarkeit des Froschherzventrikels unter der Wirkung sympatikomimetischer Stoffe.

Von

H. Gebhardt und **Fr. Metzger.**

(Eingegangen am 25. Februar 1939.)

Durch die Untersuchungen von Rhodius und Straub[1], Junkmann[2], und Kanda[3] wurde gezeigt, daß parasympatikomimetische Stoffe die refraktäre Phase des Froschherzventrikels verkürzen und damit die Ventrikelmuskulatur tetanisierbar machen. Über den Einfluß sympatikomimetischer Stoffe auf die Reizbarkeit der Ventrikelmuskulatur ist in der Literatur wenig bekannt. Junkmann[2] fand am isolierten, rhythmisch gereizten Ventrikel durch Adrenalin eine geringe Verlängerung der refraktären Phase, während er am spontan im Kreislauf schlagenden Herzen keine Veränderungen nachweisen konnte.

Es ist versucht worden, über diese Verhältnisse Klarheit zu schaffen. Unsere Versuche wurden an ausgeschnittenen spontan schlagenden Eskulentenherzen in den Monaten Dezember und Januar durchgeführt. Reizung des Froschherzventrikels erfolgte durch Öffnungsschläge mit einem Schlitteninduktorium, die Schließungsschläge waren abgeblendet. Nach Bestimmung des Reizschwellenwertes, d. h. Austasten des kleinsten Reizes, welcher innerhalb der Herzrevolution noch eine Extrazuckung auszulösen imstande war, wurde der Spulenabstand um 20 mm verringert und bei dieser Reizgröße der Versuch durchgeführt. Derjenige Abstand vom Beginn der Systole, in dem der künstliche Reiz eben gerade noch wirksam war, ergab die zeitliche Ausdehnung der relativen refraktären Phase für die gewählte Reizgröße. Dieser Zeitwert wurde vor und bei Einwirkung des Wirkstoffs ermittelt. Da das Adrenalin am Froschherzen positiv chronotrop wirkt d. h. den Gesamtablauf der Herzrevolution verkürzt, war es nützlich, den prozentualen Anteil der Refraktärphasen an den entsprechenden Gesamtrevolutionen zu berechnen. Die verwendeten Dosen lagen zwischen toxischen und wirkungslosen. Toxische Dosen führten zu Spontanarrhythmien, zu systolischem Herzstillstand oder nach Auswaschen des Wirkstoffs aus dem Ventrikel nicht mehr zu den normalen Anfangswerten. In solchen Fällen war es unmöglich oder wertlos exakte Ausmessungen durchzuführen. Zeitliche Schwankungen um $\pm$ 0,05″ wurden nicht gewertet.

---

[1] Pflügers Arch. **110**, 500 (1905). — [2] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **108**, 191 u. 344 (1925). — [3] Ebenda **190**, 417 (1938).

Tabelle 1. Der Einfluß des Adrenalins.

Nr.	Adrenalin in 1 ccm Ringer mg	Dauer der Herzrevolution normal	Dauer der Herzrevolution mit Adrenalin	Dauer der refraktären Phase normal	Dauer der refraktären Phase mit Adrenalin	Verlängerung der refraktären Phase	Anteil der refraktären Phase an der Herzrevolution normal %	Anteil der refraktären Phase an der Herzrevolution mit Adrenalin %
77	0,02	1,17	1,11	0,70	0,82	0,12	60,1	73,9
8*	0,01	1,42	1,14	0,78	0,91	0,13	55,4	79,5
10*	0,002	1,30	1,16	0,73	0,75	0,02	55,8	63,7
9	0,001	1,26	1,15	0,74	0,76	0,02	58,4	65,6
11	0,001	1,61	1,06	0,84	0,78	−0,06	51,9	72,4
17*	0,001	1,54	1,41	0,77	0,93	0,16	49,9	65,8
21	0,001	1,86	1,41	0,87	0,85	−0,02	46,9	59,8
64	0,0002	1,67	1,44	0,87	0,79	−0,08	52,0	55,2
14	0,0001	1,01	1,10	0,57	0,65	0,08	56,1	59,0

Bei den mit einem * versehenen Versuchen traten unter dem Einfluß des Wirkstoffes vorübergehend toxische Erscheinungen auf.

Die Tabelle 1 zeigt, daß unter dem Einfluß des Adrenalins (0,001 mg Adrenalin in 1 ccm Ringerlösung)

1. eine Verkürzung der Dauer der Herzrevolution bis maximal 34% der Norm eintritt,

2. die relative refraktäre Phase weder verlängert noch verkürzt wird,

3. der prozentuale Anteil der relativen refraktären Phase an der Herzrevolution im Maximum um 20% zunimmt.

Tabelle 2. Der Einfluß des Sympatols.

Nr.	Sympatol in 1 ccm Ringer mg	Dauer der Herzrevolution normal	Dauer der Herzrevolution mit Sympatol	Dauer der refraktären Phase normal	Dauer der refraktären Phase mit Sympatol	Verlängerung der refraktären Phase	Anteil der refraktären Phase an der Herzrevolution normal %	Anteil der refraktären Phase an der Herzrevolution mit Sympatol %
68*	0,4	1,42	1,42	0,68	0,69	0,01	41,0	49,0
69	0,4	1,09	1,11	0,65	0,71	0,06	59,2	63,9
66	0,2	1,24	1,15	0,71	0,61	−0,10	57,8	52,7
67*	0,2	1,18	1,19	0,73	0,71	−0,02	62,0	59,9
70	0,2	1,00	1,07	0,43	0,51	0,08	43,2	48,5
65	0,1	1,05	1,07	0,67	0,65	−0,02	63,3	60,5
79	0,1	1,26	1,35	0,78	0,79	0,01	61,7	58,7
80	0,1	1,16	1,18	0,59	0,68	0,09	50,8	57,6

In Tabelle 2 kommt zum Ausdruck, daß Sympatol weder die Rhythmik noch die relative Refraktärphase des spontan schlagenden Froschherzventrikels ändert. Selbst toxische Dosen, die den Ventrikel vorübergehend zu unregelmäßigem Schlag oder zum Stillstand führten, brachten keine Änderung der Reizbarkeitsbedingungen.

Tabelle 3. Der Einfluß des Ephedrins.

Nr.	Ephedrin in 1 ccm Ringer mg	Dauer der Herzrevolution normal	Dauer der Herzrevolution mit Ephedrin	Dauer der refraktären Phase normal	Dauer der refraktären Phase mit Ephedrin	Verlängerung der refraktären Phase	Anteil der refraktären Phase an der Herzrevolution normal %	Anteil der refraktären Phase an der Herzrevolution mit Ephedrin %
81*	0,4	1,21	1,22	0,74	1,22	0,48	61,7	100
35	0,1	0,98	1,05	0,57	0,67	0,10	57,4	63,7
43	0,1	2,02	2,10	0,98	1,21	0,23	48,6	58,1
45	0,1	1,69	1,70	1,03	1,07	0,04	61,0	63,1
47	0,1	1,78	1,81	0,85	1,22	0,37	47,8	67,3
38	0,01	1,79	1,86	0,70	0,82	0,12	39,1	43,3

Tabelle 3 zeigt, daß unter Ephedrinwirkung (0,1 mg Ephedrin in 1 ccm Ringerlösung) die Schlagfolge des Ventrikels unverändert ist, die relative refraktäre Phase absolut und prozentual wesentlich zunimmt.

Nachdem Calciumionen in vielen Fällen einen ähnlichen und vielleicht gleichsinnigen Einfluß ausüben wie der Sympathikusstoff Adrenalin, und von manchen Autoren der Adrenalineffekt als durch eine Calciumverschiebung hervorgerufen gedeutet wird, wurde noch das Calciumchlorid geprüft. Boehm[4] fand, daß „Calcium in höheren Dosen die refraktäre Phase des Froschherzventrikels verkürze".

Tabelle 4. Der Einfluß von Calciumionen.

Nr.	Calciumchlorid in 1 ccm Ringer mg	Dauer der Herzrevolution normal	Dauer der Herzrevolution mit $CaCl_2$	Dauer der refraktären Phase normal	Dauer der refraktären Phase mit $CaCl_2$	Verlängerung der refraktären Phase	Anteil der refraktären Phase an der Herzrevolution normal %	Anteil der refraktären Phase an der Herzrevolution mit $CaCl_2$ %
82*	0,5	spontane Extrasystolen, Halbrhythmus						
85	0,2	1,40	1,41	0,91	0,87	— 0,04	64,9	61,8
84	0,2	1,21	1,20	0,78	0,77	— 0,01	64,3	64,3
83	0,1	1,15	1,13	0,59	0,56	— 0,03	51,1	49,8

Die Tabelle 4 zeigt, daß subtoxische Calciumdosen (0,2 mg Calciumchlorid in 1 ccm Ringerlösung) keine sichtbaren Wirkungen haben.

Zusammenfassung.

Der Einfluß von Adrenalin, Sympatol, Ephedrin und Calciumchlorid auf die refraktäre Phase des Froschherzventrikels wurde untersucht.

1. Sympatol und Calciumchlorid haben keine Wirkung.

2. Adrenalin steigert den prozentualen Anteil der refraktären Phase an der Gesamtrevolution.

3. Ephedrin verlängert die Phase.

[4] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **75**, 230 (1914).

Aus der inneren Abteilung des St. Gertrauden-Krankenhauses Berlin-Wilmersdorf.
(Leiter: Prof. Dr. med. S. Lauter.)

Beziehungen der Glycerophosphatase zur Kohlehydrat-Fettsynthese im Fettgewebe.

Von

Dr. F. X. Hausberger und N. Neuenschwander-Lemmer.

(Eingegangen am 15. Juni 1939.)

Das Fettgewebe hat innerhalb des Gesamtorganismus Aufgaben als Gleitpolster, Wärmeschutz und Nahrungsdepot. In diesem Nahrungsspeicher werden sowohl die durch den Darm resorbierten Fette aufgenommen und abgelagert als auch aus Kohlehydraten Neutralfette aufgebaut. Es kann heute als erwiesen gelten, daß die Fettdepots den Ort der Kohlehydrat-Fettsynthese selbst darstellen. Insbesondere die Untersuchungen am isolierten Gewebe sprechen dafür (1). Unbekannt jedoch ist, auf welche Weise diese Umwandlung erfolgt, welches die Zwischenprodukte sind und durch welche Fermentreaktionen ihr Abbau und Aufbau erfolgt.

Grundsätzlich sind zwei Wege möglich. Durch Kondensation von zwei, drei und vier Hexosemolekülen und Umwandlung zu Säuren durch β-Oxydation könnten Fettsäureketten mit 12, 18 oder 24 C-Atomen sich bilden (2). Andererseits könnten die Kohlehydrate bis zu Brenztraubensäure, Milchsäure oder Acetaldehyd abgebaut werden, und die höheren Fettsäuren durch mehrfache Kondensation dieser C_3-Verbindungen entstehen (3). Dieser letztere Weg ist der wahrscheinlichere, für einige Hefe- und Schimmelpilze kann er als erwiesen gelten, wenn auch noch keineswegs feststeht, an welchen Intermediärprodukten des Zuckerabbaus die Kondensation vor sich geht. Bevor nun der Aufbau aus diesen Zwischenprodukten stattfinden kann, müssen die Zucker erst bis mindestens zur Brenztraubensäure abgebaut werden. Dieser Abbau erfolgt in einigen Organen [Retina (4), Tumoren (5)] ausschließlich phosphatlos. In der Niere überwiegt der phosphatlose Typ (6), in den übrigen Organen geschieht die Glykose unter starkem Überwiegen der Phosphorsäurebeteiligung.

In den tierischen Fettdepots erfolgt die Fettsynthese wahrscheinlich nicht durch direkte Kondensation der Zucker, sondern nach vorhergehendem Abbau der Kohlehydrate zu C_3- und C_4-Körpern. Dafür spricht, daß im Fettgewebe bei Auffütterung vorher hungernder Tiere mit Kohlehydraten reduzierende Substanzen, Glykogen und kohlehydratspaltende Fermente auftreten (8), die im Fettgewebe selbst entstehen (9). Auch das Ansteigen des respiratorischen Quotienten des isolierten Fettgewebes in der Warburg-Apparatur über 1 nach Zusatz von Brenztraubensäure weist

darauf hin, daß aus dieser Ketosäure, die möglicherweise ein Produkt der Glykolyse im Speichergewebe darstellt, Fett entstehen kann (10). Allerdings ist dieser Quotient über 1 kein absoluter Beweis für eine Fettneubildung, da bei Zuckerbildung aus diesen Substanzen ebenfalls ein solcher Quotient auftreten kann, wenn gleichzeitig eine bestimmte Menge Kohlehydrate angereichert wird (11). Der endgültige Beweis einer Fettbildung aus Zuckern im Fettgewebe steht also noch aus, wenn auch aus den bisherigen Untersuchungsergebnissen dieser Schluß bereits ganz berechtigt erscheint.

Im Fettgewebe ist — ebenso wie in den meisten übrigen Geweben — das Vorkommen einer Phosphatase, Glycerophosphatase festgestellt. Erstmalig wurde ihr Nachweis im Unterhautfettgewebe von Wohlgemuth-Nakamura (12) erbracht, genauer wurde sie von Cedrangolo untersucht (13). Dieses Enzym hat sein Wirkungsoptimum im alkalischen bei einem p_H von 9,7. Die Substratspaltung geht parallel der Fermentkonzentration, durch Mangan erfolgt eine Aktivierung, durch Natriumfluorid und -arsenat eine Hemmung. Da aber dieses Ferment beinahe überall im Organismus vorkommt (14), kann aus der Anwesenheit im Fettgewebe nicht geschlossen werden, daß es dort bei der Kohlehydrat-Fettsynthese eine aktive Rolle spielt. Ein solcher Schluß scheint erst berechtigt, wenn nachgewiesen werden kann, daß es während des Aufbaus des Fettes aus Zuckern vermehrt auftritt. In der vorliegenden Arbeit haben wir nun untersucht, ob die Glycerophosphatase zur Zeit einer gesteigerten Fettsynthese im Fettgewebe vermehrt aufzufinden ist und glauben aus ihren quantitativen Veränderungen bei bestimmten Ernährungsbedingungen bestimmte Rückschlüsse ziehen zu können.

Experimenteller Teil.

Zu unseren Versuchen benutzten wir die Hodenfettkörper von Laboratoriumsratten. Sie wurden längere Zeit mit Hafer, Graupen, Kohlblättern, Brot und etwas Fleischresten ernährt. Die Hodenfettkörper liegen paarig am Hiatus testis und am Nebenhoden und wiegen bei erwachsenen Tieren je etwa $^1/_2$—$1^1/_2$ g. Da das Material, das von einem Tier gewonnen wurde, nicht zu den Analysen ausreichte, wurden stets die linken bzw. rechten Fettkörper von 3—6 Tieren zusammen verarbeitet.

Zur operativen Entnahme wurden die rasierte Haut des cranialen Teils des Scrotums und die darunterliegende Muskelschicht etwa 1 cm weit gespalten, der Nebenhodenschweif vorgezogen und zunächst das Hunter-sche Aufhängeband durchschnitten. Ohne Berührung des sehr zerreißlichen Fettgewebes läßt sich der Hoden mit seinem Fettkörper leicht entwickeln und auf ein feuchtes (NaCl 0,9 %) Läppchen verlagern. Man unterbindet den isolierten Samenstrang so hoch wie möglich und durchtrennt ihn. Mit einer Pinzette klemmt man dabei das Gefäßbündel ab und achtet darauf, daß

bei ihrer Abnahme kein Blut auf den Fettkörper gelangt. Bei der weiteren Präparation ist große Sorgfalt darauf zu verwenden, daß die den Hoden mit den Nebenhoden verbindenden Duktuli efferentes vollständig entfernt werden. Der Gefäßstrang wird ausgestrichen, ebenfalls entfernt und der Hodenfettkörper dann mit einem sehr kleinen (Iris-) Scherchen ganz isoliert. Anschließend wird auf der Torsionswaage das Gewicht festgestellt. Die Bauchdecke ist, um Verklebungen des anderen Fettdepots mit der Wundstelle zu vermeiden, sorgfältig mit Serosaseite auf Serosaseite zu vernähen. Die Tiere waren stets bald nach dem Erwachen aus der Narkose munter und freßlustig. Der zweite symmetrische Hodenfettkörper wurde nach Beendigung des Versuchs dem getöteten Tier aus der breit geöffneten Bauchhöhle entnommen. Die weitere Verarbeitung des Gewebes erfolgte sofort in der früher beschriebenen Weise (15). Die fettfreie Trockensubstanz der linken bzw. rechten Depots wurde im Calciumexsiccator aufbewahrt und nach einigen Tagen bis Wochen auf ihren Phosphatasegehalt hin untersucht. Zur Gewinnung des Fermentextraktes wurden je 50 mg Trockensubstanz mit etwa $^1/_{10}$ g Quarzsand im Mörser 10 Minuten zerrieben, mit 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung versetzt und im Schüttelthermostaten bei 37° 4 Stunden belassen. Dann wurde abgenutscht. Zu 4 ccm dieses Extraktes gaben wir anschließend 2 ccm Glykokollpuffer, p_H 9,7, 2 ccm Natriumglycerophosphat 1 % (Merck) (beide mit Toluol gesättigt) und füllten auf 10 ccm auf. 3 ccm wurden sofort entnommen, der Rest bei 37° in den Wärmeschrank gestellt und davon nach 24 und 38 Stunden wieder je 3 ccm abpipettiert. Die Menge des gebildeten anorganischen Phosphors in den Abnahmen bestimmten wir nach Urbach mit dem Zeissschen Stufenphotometer. Der erste Wert kam als Nullwert in Abzug. Ohne Ferment erfolgt ein sehr geringer Abbau des Phosphats innerhalb der von uns benutzten Zeiten, so daß auf Leerwerte nach 24 und 48 Stunden verzichtet werden konnte. Die gesamte Fermentgewinnung und Auswertung erfolgte in den beiden Gewebsextrakten jeder Tierserie vollständig gleich und in demselben Arbeitsgang.

Voraussetzung für die von uns benutzte Art der Untersuchung ist, daß die beiden Hodenfettkörper eines Tieres unter gleichen Ernährungsbedingungen gleiches Gewicht, gleiche Zusammensetzung und gleichen Fermentgehalt aufweisen. Die Frischgewichte der beiden symmetrischen Depots sind fast identisch, gewöhnlich wiegt der linke Fettkörper etwas mehr als der rechte. In Tabelle 1 ist das Gesamtgewicht für eine ganze Tierserie angegeben, der größte gefundene Unterschied zwischen rechts und links betrug 11 %, bei den einzelnen Ratten war er nie größer als 14 %. Auch der Gehalt an Fett, Wasser und fettfreier Trockensubstanz war in den beiden Speicherorganen fast identisch (Tabelle 2). Diese Gleichheit wiesen sowohl die normal ernährten Tiere (Nr. 1, 2 und 3) wie auch die hungernden (Nr. 5) und wiederaufgefütterten (Nr. 4) auf. Cremer (16) hat in unserem Laboratorium eine größere Anzahl von Hodenfettkörpern

Tabelle 1. Kontrolluntersuchungen.

Art des Versuches, Körper- und Hodenfettkörpergewichte. Den Tieren der Versuchsserien Nr. 2 und 3 wurden die rechten Hodenfettkörper 4 Tage nach den linken entnommen, den übrigen Tieren die beiden Fettkörper gleichzeitig unmittelbar nach dem Töten.

Versuchsserie Nr.	Zahl der Tiere der Serie	Körpergewicht aller Tiere bei normaler Ernährung in g	Körpergewicht im Hunger in g	Körpergewicht nach Wiederauffütterung in g	Gewicht aller l. Hdfk. bei normaler Ernährung in g	Gewicht aller r. Hdfk. bei normaler Ernährung in g	Gewicht der l. Hdfk. bei Wiederauffütterung in g	Gewicht der r. Hdfk. bei Wiederauffütterung in g	Gewicht der l. Hdfk. im Hunger in g	Gewicht der r. Hdfk. im Hunger in g
1	4	810	—	—	3,583	3,434	—	—	—	—
2	3	535	—	—	2,413	2,180	—	—	—	—
3	4	955	—	—	4,238	4,104	—	—	—	—
4	6	1885	1325	1700	—	—	4,209	3,907	—	—
5	4	830	680	—	—	—	—	—	2293	2019

Tabelle 2. Zusammensetzung und Phosphatasegehalt der Hodenfettkörper der Kontrolltiere (zu Tabelle 1).

Versuchsserie Nr.	Fettgehalt der linken bzw. rechten Hdfk. in % des Frischgewichtes		Wassergehalt in % des Frischgewichtes		Gehalt an fettfreier Trockensubstanz in % des Frischgewichtes		Glykogengehalt in % der fettfreien Trockensubstanz		% Spaltung des Na-Glycerophosphates durch den Extrakt des Hdfk.			
									des l. Hdfks.		des r. Hdfks.	
	l.	r.	l.	r.	l.	r.	l.	r.	in 24 h	in 48 h	in 24 h	in 48 h
1	86	86	13	13	2,1	2,2	0,2	0,22	5,5	6,0	8,5	7,7
2	84	86	14	12	2,3	2,6	0,3	0,3	3,9	3,6	5,2	4,3
3	86	85	12	13	2,3	2,3	—	—	2,8	3,0	3,7	3,9
4	71	69	23	25	5,6	5,5	5,27	5,87	7,85	8,00	10,0	9,88
5	79	77	18	19	3,2	3,5	0,82	0,74	6,5	5,5	7,5	6,9

einzelner Ratten analysiert und ist dabei zu dem gleichen Ergebnis gelangt, wie wir an dem Material mehrerer gleichzeitig untersuchten Tiere.

Bei normaler Ernährung enthielt der Fettkörper 84—86 % Fett, 12—14 % Wasser und 2,1—2,6 % Trockensubstanz* (Tabelle 2, Nr. 1, 2 und 3). Im Hunger erfolgt eine (relative!) Zunahme des Wassers und der Trockensubstanz und eine Abnahme des Fettes (Tabelle 2, Nr. 5). Nach der Wiederauffütterung vorher hungernder Tiere findet man ebenfalls mehr Gewebswasser und Trockensubstanz als bei normaler Ernährung. Der Glykogengehalt zeigt bei den normal ernährten Ratten, bei den hungernden und aufgefütterten die stärkste Schwankung. Am weitaus größten war die Menge dieses Polysaccharids bei der Wiederauffütterung (Tabelle 2, Nr. 4; Tabelle 4, Nr. 7). Die Veränderungen in der Zusammensetzung des Fettgewebes wird besonders bei den Tieren deutlich, bei denen der eine Fettkörper im normalen Zustand, der andere unter geänderten Ernährungs-

* Unter Trockensubstanz ist immer fettfreie Trockensubstanz zu verstehen.

bedingungen untersucht worden war (Tabelle 4). Hier zeigt sich, daß die bei der Wiederauffütterung gefundene Wasser- und Trockensubstanzzunahme nur eine relative ist, die Vermehrung des Glykogens dagegen erweist sich als eine relative und absolute. Wir bestätigen damit die Beobachtung früherer Untersucher, daß bei Wiederauffütterung im Fettgewebe vermehrt Glykogen auftritt. Die größte von uns beobachtete Menge war 12,35% der Trockensubstanz. Arndt (17) hatte bis 7%, Hoffmann und Wertheimer (18) hatten bis 6,4% des Frischgewichts gefunden. Wenn man bedenkt, daß die Trägersubstanz des Glykogens, das Zelleiweiß, in nur geringer Menge im Fettgewebe vorhanden ist, so sind dies Plasmabezugswerte von einer Größe, wie sie sonst unter bestimmten Bedingungen nur in der Leber gefunden werden.

Unter den wiederaufgefütterten Tieren ließen nur die der Serie Nr. 9 eine außerhalb der natürlichen Schwankungsbreite liegende Glykogenvermehrung vermissen. Diese Ratten hatten am Morgen nach Beendigung der Hungerperiode reichlich Futter erhalten, es war jedoch versäumt worden, ihnen wie den anderen Tieren am Abend nochmals Nahrung zu geben. Am Morgen des nächsten Tages, an dem der Versuch beendet wurde, war alles vor 24 Stunden gegebene Futter verzehrt gewesen. Die Mägen waren leer, der Darm allerdings gefüllt. Möglicherweise war die in den letzten Stunden resorbierte Nahrungsmenge nicht mehr genügend groß, um auch in den Fettdepots abgelagert zu werden.

Die beiden symmetrischen Fettkörper der unter gleichen Ernährungsbedingungen getöteten Tiere, die sich in ihrer Zusammensetzung so ähnlich erwiesen hatten, enthielten nun auch fast ganz gleiche Mengen an Glycerophosphatase (Tabelle 2). Die größten beobachteten Unterschiede zwischen den beiden zusammengehörenden Depots gingen nicht über 25% hinaus (Nr. 2). Die Schwankungen bei den einzelnen Tiergruppen dagegen sind ganz erheblich, auch unter gleichen Ernährungsbedingungen. Das Fettgewebe der Serie Nr. 1 enthält fast doppelt soviel Enzym wie das der Serie Nr. 3, die im normalen Ernährungszustand entnommenen Hodenfettkörper der Tiere Nr. 10 fast 14mal soviel wie die von Nr. 11. Trotz der großen individuellen Unterschiede können Veränderungen, die durch die Ernährung bedingt sind, festgestellt werden, wenn die Untersuchung zunächst am Fettgewebe bei normaler Fütterung und dann am symmetrischen Fettkörper des gleichen Tieres nach Änderung der Ernährung erfolgt.

Nach der operativen Herausnahme des einen Depots ließen wir die Versuchstiere 3—4 Tage hungern. Die Gewichtsabnahme betrug 28—16% des Ausgangsgewichtes. Oft war nach einer ein- bis zweitägigen Fütterung mit Kohlehydraten das Anfangsgewicht fast wieder erreicht, der Fettkörper dagegen hatte noch keineswegs eine entsprechende Größe. Mit Ausnahme der Serie Nr. 9 hatten alle Tiere stark gefüllte Mägen und Därme, und ein sicher nicht unbeträchtlicher Teil des Gesamtgewichtes war durch diese im Darm liegende Nahrung bedingt. Es kann angenommen werden, daß eine lebhafte Resorption der Nahrung stattfand und in den

Tabelle 3. Körpergewicht und Hodenfettkörpergewicht von Ratten bei normaler Ernährung und nach Wiederauffütterung.

Versuchsserie Nr.	Zahl der Tiere der Serie	Körpergewicht aller Tiere zu Beginn des Versuches	Dauer des Hungers in Tagen	Körpergewicht nach dem Hungern	Dauer der Wiederauffütterung in Tagen	Körpergewicht nach der Wiederauffütterung	Gewicht aller Hdfk. zu Beginn des Versuchs (= normale Ernährung)	Gewicht aller Hdfk. bei Beendigung des Versuches (= Wiederauffütterung)
6	4	940	5	679	1	790	4,593	0,874
7	6	1530	3	1115	1	1275	4,533	2,927
8	3	650	4	530	2	610	2,552	1,842
9	3	865	3	750	1	810	3,891	2,449
10	3	995	3	850	2	955	3,655	2,096
11	3	920	4	—	1	855	4,153	2,111
12	6	1790	4	1505	1	1675	8,762	3,998

Tabelle 4. Zusammensetzung und Phosphatasegehalt der Hodenfettkörper der Tiere Tabelle 3 bei normaler Ernährung und nach Wiederauffütterung.

Versuchsserie Nr.	Fettgehalt der linken, bzw. rechten Hdfk. in % des Frischgewichtes		Wassergehalt in % des Frischgewichtes		Gehalt an fettfreier Trockensubstanz in % des Frischgewichtes		Glykogengehalt in % der fettfreien Trockensubstanz		% Spaltung des Na-Glycerophosphate durch den Extrakt			
									des linken (normalen) Hdfks.		des r. auf- (gefütterten) Hdfks.	
	l.	r.	l.	r.	l.	r.	l.	r.	in 24 h	in 48 h	in 24 h	in 48 h
6	81	38	17	54,5	1,9	7,5	0,56	2,39	2,8	4,1	9,8	12,00
7	80	74	17	21	2,8	4,5	2,25	12,35	4,5	8,5	10,0	14,80
8	85	63	12	32	3,0	5,0	—		2,3	3,1	6,3	10.00
9	87	81	11	16	2,0	3,0	0,57	0,61	3,7	6,2	4,8	7,00
10	85	71	12	25	3,0	4,0	2,16	6,99	8,5	10,4	14,9	20,30
11	73	75	25	21	2,0	4,0	0,38	0,80	0,3	0,72	2,62	3,37
12	89	39	9	56	2,3	4,8	0,26	0,63	0,44	1,01	3,50	4,80

Fettlagern eine ebenso lebhafte Umwandlung von Kohlehydraten zu Fett, die möglicherweise mit einer Vermehrung der beteiligten Gewebsfermente einherging.

In fünf von den sechs untersuchten Tierserien (bei 28 von 31 Tieren) fanden wir nun im wiederaufgefütterten Fettgewebe stets erheblich mehr Glycerophosphatase als bei normaler Ernährung. Diese Zunahme des Ferments war sowohl im 24-Stunden-Wert, wie auch nach 48 Stunden festzustellen (Tabelle 4), sie betrug nach 48 Stunden im Durchschnitt 132 %, das Minimum war 75 % (Nr. 7), das Maximum 385 % (Nr. 12).

Nur im Versuch Nr. 9 war die Menge der Glycerophosphatase in beiden Depots gleich groß. Wir haben schon darauf hingewiesen, daß diese Tiere in den letzten Stunden nicht genügend Nahrung erhalten hatten, und daß dadurch die Glykogenbildung verhindert wurde. Wahrscheinlich wurde auch die Phosphatasezunahme hintangehalten. Bei allen anderen Versuchen war im wiederaufgefütterten Fettgewebe stets vermehrt Glykogen nachzuweisen. Glykogen und Glycerophosphatase zeigen keine strenge

mengenmäßige Beziehung, jedoch enthielt das Gewebe mit geringem Glykogengehalt auch stets weniger Phosphatase, das Gewebe mit reichlich Glykogen auch reichlich Ferment.

In der Trockensubstanz des Versuchs Nr. 6 bestimmten wir den Gesamtphosphor und fanden im Material des Fettkörpers bei normaler Ernährung 0,42 mg% Phosphor, in dem des wiederaufgefütterten Depots 0,58 mg%. Die Zunahme beträgt 38 %, während bei gleicher Ernährung der Unterschied im Phosphorgehalt des linken und rechten Hodenfettkörpers nicht mehr als 14 % ist. Der in physiologischer Kochsalzlösung nach vierstündiger Extraktion bei 37° enthaltene organische Phosphor betrug 0,28 mg% der Trockensubstanz des normalen und 0,36 mg% der Trockensubstanz des wiederaufgefütterten Hodenfettkörpers. In zwei Kontrollversuchen waren unter gleichen Ernährungsbedingungen für die beiden Fettkörper die entsprechenden Werte 0,24 und 0,22 mg% (Versuch Nr. 1) und 0,31 und 0,32 mg% (Versuch Nr. 5).

Zusammenfassung.

Die beiden symmetrischen Hodenfettkörper von Ratten besitzen unter gleichen Ernährungsbedingungen annähernd gleiches Frischgewicht und gleichen Gehalt an Fett, Wasser, Trockensubstanz, Gesamtphosphor, wasserlöslichen Phosphor und Phosphatase. Bei der Wiederauffütterung vorher hungernder Tiere mit einer überwiegend kohlenhydrathaltigen Nahrung erfolgt eine Glykogenvermehrung und eine Zunahme der Gewebsphosphatase und des Phosphors.

Diese Befunde machen es wahrscheinlich, daß die Kohlehydratfettsynthese im tierischen Fettgewebe nicht durch direkte Kondensation von Hexosemolekülen vonstatten geht. Die Kohlehydrate werden mit Hilfe der in den Depots nachgewiesenen Fermente über Phosphorsäurezwischenstufen abgebaut. Aus den Abbauprodukten erfolgt der Aufbau der Fette.

Literatur.

1) Quagliariello u. Scoz: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **5**, 1117 (1930); Scoz: Arch. Sci. biol. (It.) **17**, 262 (1932); Ruska u. Quast: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 217 (1935); Henle u. Spingier: Ebenda **180**, 673 (1936); Felix u. Eger: Arch. klin. Med. **182**, 623 (1938). — 2) Fischer: Untersuchungen über Kohlehydrate und Fermente, Berlin. 1909. — 3) Fitz: Ber. dtsch. Chem. Ges. **9**, 1348 (1876); **13**, 1309 (1880); Neuberg u. Mitarbeiter: Biochem. Z. **96**, 133 (1919); **89**, 365 (1918); **92**, 234 (1918); **117**, 269 (1921). — 4) Bumm u. Fehrenbach: Z. physiol. Chem. **195**, 1409 (1934). — 5) Bowland u. Mawson: Biochem. J. (Brit.) **28**, 1409 (1934). — 6) Jost: Ber. Physiol. **81**, 393 (1934). — 7) Wetzel u. Heid: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 689 (1936), dort weitere Literatur. — 8) Scoz: Arch. Sci. biol. (It.) **18**, 385 (1933). — 9) Hausberger: Z. exper. Med. **162**, 167 (1937). — 10) Eger: Verh. Ges. Verdgskrkh. 1938, 14. Tagg., S. 78. — 11) Meyerhof u. Lohmann: Biochem. Z. **157**, 459 (1925). — 12) Wohlgemuth u. Nakamura: Biochem. Z. **175**, 226 (1926). — 13) Cedrangolo: Arch. Sci. biol. (It.) **22**, 123 (1936). — 14) Oppenheimer: Die Fermente, Suppl. Bd. 1 (1935). — 15) Hausberger u. Guyot: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 655 (1937). — 16) Cremer: Ebenda **192**, 572 (1939); im Druck. — 17) Arndt: Verh. dtsch. path. Ges. 21. Tagg. 1926. — 18) Hoffmann u. Wertheimer: Pflügers Arch. **217**, 729 (1927).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Westf. Wilhelms-Universität in Münster.
(Direktor: Prof. L. Lendle.)

Über die Brechwirkung des Lobelanins, des Lobelanidins und eines weiteren Nebenalkaloids der Lobelia inflata.

Von
Dr. med. **Rudolf Richter**, Assistent.

(Eingegangen am 14. Juni 1939.)

Die Lobelia inflata, auch wegen ihres scharfen brennenden Geschmacks Indian tabacco genannt, eine in Nordamerika heimische Pflanze, wurde um 1770 den Weißen durch ihre Brechwirkung bekannt. In die eigentliche Therapie wurde sie aber erst 1807 durch Samuel Thomsen eingeführt, der sie als ein Mittel gegen Asthma empfahl. Seit dieser Zeit wurde sie sehr viel, besonders in Amerika, teils als Antiasthmaticum, teils als Emeticum gebraucht. Man muß aber wohl jetzt annehmen, daß zum größten Teil die antiasthmatische Wirkung durch ihre brecherregenden Eigenschaften bedingt war.

Als im Laufe der beiden letzten Jahrzehnte dem Chemiker Heinrich Wieland die Konstitutionsermittlung und auch die Synthese einiger Alkaloide dieser Droge gelang, wandte sich das Interesse der Kliniker und der Pharmakologen hauptsächlich dem Lobelin zu, welches durch seine starke, das Atmungszentrum erregende Wirkung eine große Bedeutung in der Klinik erlangt hat. Gegenüber dem Asthmaanfall erwies es sich aber als unwirksam. Die pharmakologische Untersuchung der anderen Alkaloide führte zur Feststellung der Brechwirkung der beiden Nebenalkaloide Lobelanin und Lobelanidin. Die physiologisch wichtigen Eigenschaften der Tinktura Lobeliae schienen sich also in folgender Weise durch diese drei Alkaloide erklären zu lassen:

Lobelin: Erregung des Atemzentrums und in toxischen Dosen Krampfwirkung. Durch Steigerung der Dosis läßt sich auch gelegentlich Erbrechen auslösen.

Lobelanin: Erregung des Brechzentrums, schwächere Erregung des Atemzentrums und in toxischen Dosen Krampfwirkung.

Lobelanidin: Nur Erregung des Brechzentrums, in toxischen Dosen Lähmungserscheinungen.

In einer früheren Arbeit (1) hatte ich nun einige weitere Nebenalkaloide der Lobelia inflata untersucht und dabei feststellen können, daß eines dieser Nebenalkaloide — B I genannt — eine dem Lobelin ähnliche Wirkung besaß, es aber an Wirkungsintensität bei weitem übertraf. Quantitative pharmakologische Untersuchungen machten es sogar wahrschein-

lich, daß dieses Alkaloid weit eher als Träger der pharmakologischen Wirkungen der Tinctura Lobeliae in Frage kam als das Lobelin. Offen blieb aber noch die Frage, wie weit dieser Substanz auch eine stärkere Brechwirkung zukam.

Auf den Untersuchungen von H. Clementi (2) beruht die Kennzeichnung der beiden Alkaloide Lobelanin und Lobelanidin als die eigentlichen brechenerregenden Bestandteile der Tinctura Lobeliae. Nun sind diese Untersuchungen sämtlich mit parenteraler Applikation der beiden Substanzen durchgeführt worden. Aber die Brechwirkung der Tinctura Lobeliae ist gerade bei peroraler Anwendung bekanntgeworden. Zieht man ferner in Betracht, daß das Lobelanin ebenso wie das Lobelin eine β-substituierte Carbonylgruppe enthält und daß diese Konfiguration gerade die leichte Zerstörbarkeit des Lobelins im Organismus bedingt, so ist daran zu denken, daß wenigstens dieses Nebenalkaloid bei peroraler Verabreichung seine Wirksamkeit verlieren könnte (über Lobelanidin vgl. später).

Aus diesen Gründen unternahm ich eine Untersuchung der Brechwirkung der drei Nebenalkaloide* Lobelanidin, Lobelanin und B I bei peroraler Verabreichung. Neben diesen Alkaloiden wurde gleichzeitig die Brechwirkung der Tinctura Lobeliae geprüft.

Versuchsergebnisse.

Zur Verfügung standen mir drei Hunde, die schon vorher zu Brechversuchen benutzt worden waren und deren Brechneigung gegenüber Apomorphin aus diesen Versuchen bekannt war. Sie erhielten im Abstand von 3 Tagen wechselnde Mengen der in Wasser gelösten Alkaloide. Der Wirkungsgrenzwert wurde bei einer Dosierungsdifferenz von 25% festgestellt.

Zunächst wurden noch Versuche bei intravenöser Injektion der drei Alkaloide ausgeführt, die für B I eine besonders starke Wirkungsweise zeigten. 0,6 mg/kg Lobelanin, langsam i. v. injiziert, führte während der Injektion zu einer vertieften und verlangsamten Atmung; Erbrechen trat nicht auf.

0,064 mg/kg B I i. v. bewirkte eine derart erregte und vertiefte Atmung, daß die Dosis nicht weiter erhöht werden konnte. Gleichzeitig trat ein sehr starker Bewegungsdrang auf, wobei das Tier sich im Kreis zu drehen schien. Auffällig war dabei vor allem der unsichere Gang, der durch die spastische Haltung des Tieres bedingt war. Diese Symptome hielten ungefähr 2 Minuten an. Die Atmung war aber noch nach 14 Minuten sehr stark beschleunigt und nach 22 Minuten noch immer nicht zur Ruhe gekommen. Trotz dieser starken Erregung trat aber kein Erbrechen auf.

Ein etwas anderes Vergiftungsbild trat dagegen in Erscheinung, wenn man eine sehr hohe Dosis B I peroral verabreichte. 10 mg/kg B I, also

* Die Überlassung der Reinpräparate verdanke ich der Firma C. H. Boehringer, Ingelheim.

eine rund 160fach stärkere Dosis als bei intravenöser Injektion, führte sofort zu Erbrechen, welches sich im Laufe von 5 Minuten mehrmals wiederholte. Außerdem trat eine so sehr beschleunigte und vertiefte Atmung ein, daß diese das Vergiftungsbild eigentlich beherrschte. Es ging Stuhl ab. Nach 10 Minuten waren die Symptome verschwunden. Dagegen stellte sich kein Bewegungsdrang ein und ebenso fehlte die spastische Haltung der Tiere.

Eine gleichstarke Dosis Lobelanidin hinterließ bei peroraler Verabreichung überhaupt keine Erscheinungen. Nach 10 mg Lobelanin pro kg machte das Tier nur einen etwas mitgenommenen Eindruck.

Die weitere Aufgabe bestand nun darin, die gerade noch brechwirksamen Dosen für B I und Tinctura Lobeliae bei peroraler Verabreichung zu ermitteln. Lobelanin und Lobelanidin hatten sich mit 10 mg/kg als unwirksam erwiesen und wurden daher nicht weiter untersucht.

Die Ergebnisse dieser Prüfung sind in Tabelle 1 unter Angabe der Grenzdosen pro kg zusammengefaßt. In der letzten Spalte der Tabelle ist die bei den einzelnen Versuchstieren gerade noch wirksame Dosis von Apomorphin angegeben.

Tabelle 1.

Versuchstier	Tinktura Lobeliae g	Lobelanin mg	Lobelanidin	B I mg	Apomorphin subcutan mg
Hund I, 27,5 kg	1,2			0,125	0,015—0,02
„ II, 9 kg	1,3		10 mg negativ	0,5	0,06 —0,075
„ III, 8 kg	1,5	10 negativ	—	1,5 mg negativ	0,015—0,02

Nach peroraler Verabreichung von B I trat gewöhnlich sofort eine Beschleunigung und Vertiefung der Atmung ein. Diese Atmungserregung konnte direkt in das Erbrechen überleiten, besonders wenn der Brechakt kurze Zeit nach der Einnahme erfolgte. Gewöhnlich war aber die Atmungserregung schon vor Beginn des Erbrechens abgeklungen. Das Erbrechen setzte 2—27 Minuten nach der Giftapplikation ein, am häufigsten zwischen der 4. und der 15. Minute. Öfters erfolgte im Abstand von wenigen Minuten mehrmaliges Erbrechen. Dem Brechakt ging ein starker Speichelfluß voraus.

B I zeigte sich bei den beiden ersten Tieren sehr wirksam, bei dem dritten Tier wurde die Dosis nicht weiter gesteigert. Eine ähnliche Unterempfindlichkeit wie bei diesem Hund hatte ich im vergangenen Jahr bei einem anderen Tier gefunden und hatte daher in meiner ersten Arbeit angegeben, daß B I erst von 5 mg/kg ab Erbrechen auszulösen vermag. 2 mg/kg hatten sich damals als unwirksam erwiesen.

Um den beim Gebrauch der Tinctura Lobeliae gegebenen Verhältnissen etwas näherzukommen, gab ich in einer Reihe von Versuchen die Versuchsdosis von B I zusammen mit 2 ccm der Tinktur pro Tier. Bei den beiden

ersten Versuchstieren wurde die Wirksamkeit von B I dadurch nicht verändert. Bei dem dritten unempfindlichen Tier gelang es jedoch, dadurch mit 1 mg B I pro kg sicher Erbrechen auszulösen. Mit 0,75 mg pro kg war die Wirkung nicht regelmäßig.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Aus meinen Versuchen ergibt sich, daß Lobelanin und Lobelanidin ebenso wie das Lobelin entweder im Magen-Darmkanal oder in der Leber durch Abbau ihre Wirkung verlieren. Für das Lobelanin ist dieser Abbau um so wahrscheinlicher, da die OH-Gruppe des Lobelins im Lobelanin auch noch oxydiert ist, so daß es zwei β-substituierte Carbonylgruppen enthält und somit noch leichter angreifbar sein muß als das Lobelin. Im Lobelanidin sind dagegen die beiden Ketogruppen zu Hydroxylgruppen reduziert; daher wird diese Substanz wohl stabiler sein.

Vielleicht ist es aber überhaupt nicht notwendig, eine rasche Zerstörbarkeit dieser Substanzen für die Erklärung ihrer Unwirksamkeit bei peroraler Applikation heranzuziehen. A. Clementi (3) gibt nämlich an, daß auch bei subcutaner Injektion die Grenzdosis für das stark brechwirksame Lobelanidin bei 10 mg/kg liegt. Für Lobelanin soll es noch etwas höher liegen. Die verabfolgte Menge dieser beiden Alkaloide — das gilt wohl besonders für das nicht so leicht zerstörbare Lobelanidin — mag daher für eine auf peroralem Wege herbeizuführende Brechwirkung einfach zu gering gewesen sein, sofern diese Substanzen einen zentralen Angriffspunkt besitzen.

Mir ging es vorwiegend um den Nachweis, daß diese Substanzen nicht die Brechwirkung der Tinctura Lobeliae zu erklären vermögen, und dazu war die Tatsache der Unwirksamkeit von 10 mg/kg ausreichend genug. Das bedeutet nämlich, daß in der wirksamen Grenzdosis der Tinktur von 1,2—1,5 g/kg mehr als 10 mg Lobelanin oder Lobelanidin enthalten sein müßte. Diese Annahme kann aber unmöglich stimmen, weil der Gesamtalkaloidgehalt der Droge nur 0,38% ausmacht (4) und auf 1 ccm Tinktur (= 1,07 g) daher im besten Falle 0,39 mg Alkaloide kommen können.

Die Gegenüberstellung des B I-Vergiftungsbildes bei intravenöser und peroraler Applikation kann vielleicht einen Hinweis auf den Wirkungsmechanismus des Alkaloids geben. Die bei intravenöser Injektion von B I an den Hunden aufgetretenen Symptome sind den Vergiftungserscheinungen sehr ähnlich, die an weißen Ratten nach subcutaner Injektion von B I zu beobachten sind, wie ich sie in meiner ersten Arbeit beschrieben habe. Für Ratten lag die Dosis, welche klonisch-tonische Krämpfe auslöst, bei 0,2 mg pro kg. Kleinere Mengen führten nur zu Atemerregung, starkem Bewegungsdrang, spastischer Haltung und unsicherem Gang. Dagegen vermochten bei Verabreichung durch die Schlundsonde selbst Mengen von 5 mg/kg B I bei Ratten noch keine Krämpfe auszulösen.

Entsprechend diesen Versuchsergebnissen traten auch bei Hunden nach peroraler Applikation trotz 160fach stärkerer Dosierung keine Krämpfe auf. Für die Deutung des Wirkungsmechanismus ist es aber von Wichtigkeit, daß trotzdem die brechenerregende Eigenschaft von B I erhalten geblieben ist. Wenn 0.06 mg/kg bei intravenöser Injektion trotz sehr starker Allgemeinerregung kein Erbrechen auslösen, dagegen 0,12 mg/kg bei peroraler Verabreichung zum Erbrechen führen, dann kann der Wirkungsmechanismus wohl schwer über eine zentrale Erregung zu verstehen sein. Es ist viel eher an die sehr starke schleimhautreizende Wirkung von B I zu denken, die ich in meiner ersten Arbeit erwähnt hatte. Das Erbrechen müßte dann reflektorisch von der Magenschleimhaut ausgelöst werden.

Ich glaube, daß durch die Untersuchungen dieser und der vorausgehenden Arbeit die Vorstellungen über die Träger der pharmakologischen Eigenschaften der Tinctura Lobeliae einer Revision unterzogen werden müssen. Bei genügender Beobachtung der qualitativen und quantitativen Wirkungsbedingungen ist es nicht zulässig, für die Brechwirksamkeit der Tinktur das Lobelanin oder das Lobelanidin und für die spasmolytischen, krampferregenden und atmungserregenden Eigenschaften der Tinktur das Lobelin heranzuziehen. Als einziges Alkaloid, dem diese Eigenschaften bei peroraler und enteraler Applikation zukommen, und zwar in einer Dosierung, die seiner Konzentration in der Tinktur selbst entspricht, hat sich das Nebenalkaloid B I erwiesen. Auch bei parenteraler Applikation war diese Substanz wirksamer als die übrigen Alkaloide. Seine brechenerregende Eigenschaft ist an die perorale Darreichung gebunden, da seine Brechwirksamkeit im Gegensatz zu der des Lobelanins und Lobelanidins peripher bedingt ist.

Zusammenfassung.

Bei peroraler Verabreichung vermochten 10 mg Lobelanin oder Lobelanidin pro kg nicht Erbrechen auszulösen. Diese beiden Substanzen können daher nicht für die Erklärung der Brechwirksamkeit der Tinctura Lobeliae herangezogen werden.

Die Brechwirkung der Tinktur ist bedingt durch das Nebenalkaloid B I, welches schon in einer Dosis von 0,125 mg/kg bei peroraler Verabreichung zum Erbrechen führt. Seine Wirkung ist peripher bedingt. Die pharmakologischen Eigenschaften der Tinktur müssen vorwiegend dem sogenannten Nebenalkaloid B I zugeschrieben werden.

Literatur.

1) Richter, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 280 (1938). — 2) Clementi, A.: Boll. Soc. Biol. sper. **8**, 1132 (1933), zit. nach Ber. d. Phys. **76**, 767. — 3) Clementi, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 265 (1936). — 4) H. Lestra: Bull. sci. pharm. **33**, 16 (1926) zit. nach Rona **35**, 589.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität, Münster/Westf.

Über die Veränderung der Adrenalinempfindlichkeit der Gefäße des isolierten Kaninchenohrs bei Durchströmung mit gefäßwirksamen Stoffen und Kapillargiften.

Von

L. Lendle und **H. Puhlmann.**

(Unter Mitwirkung von H. Voigtländer).

(Eingegangen am 14. Juni 1939.)

Die gefäßverengernde Wirksamkeit von Pharmaca läßt sich, soweit sie einen peripheren Angriffspunkt haben, leicht bei isoliert durchströmten Organen an der Beeinflussung der Durchströmungsgeschwindigkeit messen. Die Wirksamkeit peripher gefäßerweiternder Stoffe kann aber nicht mit der gleichen Zuverlässigkeit am isoliert durchströmten Organ gemessen werden, weil die Gefäße an den isolierten Organen nicht mehr unter dem Einfluß des vegetativen Nerventonus stehen und daher häufig schon maximal dilatiert sind.

Nun besteht aber vielfach ein besonderes Interesse gerade für die gefäßerweiternden Stoffe, die teils als körpereigene, kreislaufregulierende „Gewebshormone" für die besonderen Bedingungen der Organdurchblutung und Blutverteilung eine Rolle spielen, teils als körperfremde „Kapillargifte" Anlaß zur Ausbildung besonderer Vergiftungserscheinungen geben können. Einer Analyse ihrer Wirkungsweise, insbesondere ihrer feineren Angriffspunkte am isolierten Organgefäßpräparat stehen die oben erwähnten Schwierigkeiten entgegen. Grundsätzlich könnte eine Gefäßerweiterung zustandekommen durch Lähmung des Vasokonstriktorentonus, durch Erregung spezifischer Dilatatoren in direkter oder reflektorischer Weise und schließlich durch Schädigung der Muskulatur als Erfolgsorgan.

Die Angriffspunkte selbst könnten dabei die verschiedenen Teilgebiete der peripheren Gefäßabschnitte sein. Im allgemeinen nimmt man an, daß für die Durchströmungsgeschwindigkeit die Kapillarweite selbst keine so große Rolle spielt wie der Tonus der Arteriolen, die als engster Teil der Strombahn den Zufluß drosseln oder erhöhen können. Ausgesprochen kapillarwirksame Stoffe können z. B. am isolierten Gefäßpräparat des Frosches oder des Kaninchenohres nicht wirksam erscheinen (C. Meyer[1] und H. Heite[2]). Zur genaueren Analyse des Angriffspunktes hat man auch schon gelegentlich Versuche mit antagonistisch wirksamen Mitteln (Adre-

[1] Meyer, C.: Inaugural Dissertation, Göttingen 1924. — [2] Heite, H. J.: Inaugural Dissertation, Berlin 1938.

nalin, Barium usw.) unternommen, wobei man dann freilich meist mit mehreren Unbekannten zu rechnen hat.

Rein[3] hat neuerdings empfohlen zur biologischen Charakterisierung von vasodilatierenden und kontrahierenden Mitteln ihre Wirkung in vivo mit wohl untersuchten physiologischen Reaktionen in einem Gefäßgebiet interferieren zu lassen. So sollen sich äußerlich ähnliche hyperämische Zustände nach Azetylcholin und Histamin z. B. deutlich unterscheiden lassen. Adrenalin und Carotissinusreflexe vermögen eine Histamin- und Adenosinwirkung zu durchbrechen, nicht aber eine Hyperämie durch Azetylcholin (vgl. Mertens, Rein und Valdecassas[4] und Grosse-Brockhoff, Schneider und Schoedel[5].

Am isolierten Gefäßpräparat des Kaninchenohres lassen sich solche antagonistische Effekte nun, abgesehen von der physiologischen Frage des Wirkungsmechanismus noch besonders genau auf die quantitativen Wirkungsverhältnisse studieren, wobei manche spezifisch pharmakologische Fragestellung bearbeitet werden kann. Heite[2] hat neuerdings am Froschgefäßpräparat schon derartige Versuche ausgeführt und dabei auch längere Einwirkungszeiten berücksichtigt. Er konnte dabei u. a. zeigen, daß typisch kapillarlähmende Stoffe wie Histamin und Dionin bei Durchströmung in Konzentrationen bis 1 : 5000 die Durchströmung nicht beschleunigen und die Adrenalinempfindlichkeit nicht beeinflussen, während Kapillargifte wie Arsenik bei längerer Durchströmungszeit schon in Konzentrationen bis 1 : 2 Millionen ohne Beeinflussung der Durchströmungsgeschwindigkeit die Adrenalinempfindlichkeit vermindern. Nur Papaverin, welchem eine lähmende Wirkung auf die Arteriolen zugeschrieben wird, beschleunigte deutlich und schnell ab Konzentrationen 1 : 5 Millionen den Durchfluß und setzte in der gleichen Grenzkonzentration auch die Adrenalinempfindlichkeit herab. Diese Beobachtung weist übrigens auch darauf hin, daß die Gefäße solcher isolierten Organpräparate doch nicht so „tonuslos" sind, wie man auf Grund ihrer Trennung vom Zentralnervensystem anzunehmen pflegt.

Diese Beobachtungen wurden am isolierten Ohrgefäßpräparat für eine Reihe wichtiger gefäßwirksamer Stoffe fortgesetzt. Dabei wurden Ergebnisse über ein verschiedenartiges Verhalten gewonnen, die eine vergleichende Betrachtung erforderlich machen.

I. Methodik.

Es wurden Durchströmungspräparate von Kaninchenohren nach Krawkow und Pissemski hergestellt und an diesen die Adrenalinempfindlichkeit fortlaufend geprüft, bis Konstanz der Empfindlichkeit vorlag. Die Adrenalinwirksamkeit wurde gemessen bei Injektionen von 0,1—0,2 ccm verschiedener Verdünnungen (jeweils frisch hergestellt). Der Grad der Wirkung wurde mit ±, (+), + aufsteigend

[3] Rein, H.: Knolls Mitteilg., Jubiläumsband 1936, S. 21. — [4] Mertens, Rein u. Valdecassas: Pflügers Arch. **237**, 454 (1936). — [5] Grosse-Brockhoff, Schneider u. Schoedel: Ebenda **237**, 178 (1936).

bezeichnet, wenn sich die Verlangsamung der Tropfgeschwindigkeit in einer Zunahme der Sekundenzahl pro 10 gtt von weniger als 30%, von 30—50% oder mehr als 50% der Ausgangswerte äußerte. Nach diesem gleichmäßigen Beurteilungsschema wurden die „Grenzkonzentrationen" der Giftstoffe ermittelt, bei welchen Adrenalinwirkungsgrade von (+) bis + erreicht wurden. In einem Teil der Versuche wurden auch absichtlich für hohe Konzentrationsbereiche der Gefäßgifte die Abnahme der Adrenalinempfindlichkeit in dieser Weise ermittelt, wobei die Verschiebung der wirksamen Adrenalingrenzdosis wieder einen quantitativen Ausdruck für den Grad der Gefäßlähmung lieferte.

Die Einwirkungszeit wurde bei den meisten Stoffen für die verschiedenen Konzentrationen auf 30—40 Minuten beschränkt, wofern die Wirkung sich schnell einstellte. Nach Umschaltung auf Ringer konnte dann jeweils die Reversibilität geprüft werden. Es konnten so auch verschiedene Konzentrationen des gleichen Giftes oder auch verschiedene Giftstoffe am selben Präparat hintereinander geprüft werden.

II. Wirkung verschiedener gefäßaktiver Stoffe auf die Adrenalinempfindlichkeit.

Es wurde eine große Anzahl von Pharmaca in vergleichender Weise untersucht, worüber zum Teil in einer Dissertation von Voigtländer[6] genauer berichtet wird. Hier sollen nur kurz einige Ergebnisse in tabellarischer Zusammenfassung gebracht werden. Ein Protokollauszug für einen Versuch mit Chininlösungen, der später noch einer quantitativen Betrachtung zugrunde gelegt werden soll (vgl. S. 13), sei hier aber als Beispiel der allgemeinen Versuchsanlage angeführt.

Tabelle 1. Adrenalinempfindlichkeit unter Chinindurchströmung.

Durchströmungsflüssigkeit	Dauer Min.	Tropfgeschwindigkeit Sek. pro 10 gtt.	Adrenalingrenzdosierung Menge	Wirkung	Grad der Empfindlichkeit
Ringer	—	15	0,1 ccm 1/10 Mill.	+	
Chin. hydr. 1/300000	25	14	0,1 „ 1/10 „	+	1/1
Ringer	—	15—16	0,1 „ 1/10 „	+	
Chinin 1/200000	22	14	0,2 „ 1/10 „	+	1/2
Ringer	—	15	0,1 „ 1/10 „	+	
Chinin 1/100000	25	13,5	0,2 „ 1/5 „	+	1/4
Ringer	—	15,5	0,1 „ 1/10 „	+	
Chinin 1/50000	26	12	0,2 „ 1/1 „	+	1/20
Ringer	—	15	0,1 „ 1/10 „	+	
Chinin 1/25000	23	11,5	0,2 „ 1/200000	+	1/100
Ringer	—	16	0,1 „ 1/10 Mill.	+	
Chinin 1/10000	25	10	0,2 „ 1/1000	+	1/10000
Ringer	—	16,5	0,1 „ 1/5 Mill.	+	

Die in ähnlicher Weise mit anderen Stoffen durchgeführten Versuche werden im folgenden nur in den Endergebnissen zusammengefaßt. Die Angaben der Grenzdosierungen beruhen aber jeweils auf mehreren Versuchen an verschiedenen Ohrpräparaten. Die Ergebnisse sollen zunächst nach verschiedenen Gruppen von gleichwirksamen Pharmaca vorgelegt werden.

[6] Voigtländer: Dissertation Münster, erscheint 1939.

A. Sogenannte Kreislaufhormone.

Für eine Anzahl körpereigener kreislaufwirksamer Stoffe, die zum Teil beim Zerfall von Gewebselementen entstehen können (Freund[7], Zipf[8] u. a.) oder die wie Adenosinderivate im intermediären Tätigkeitsstoffwechsel des Muskels gebildet werden und wahrscheinlich für die physiologische Mehrdurchblutung der Muskulatur verantwortlich zu machen sind (Fleisch[9]), werden spezifisch dilatierende Einflüsse auf die peripheren Gefäßelemente beschrieben. Auch das vermutlich dem Pankreas entstammende Kallikrein (Padutin) und das Gewebsextrakt Lacarnol gehören in diese Gruppe. Für einige Stoffe ist eine direkte kapillarerweiternde Wirkung nachgewiesen, z. B. für das Kallikrein (Friedländer[10]) und Adenosinderivate (Zipf[11]).

Für Adenosin und Adenylsäurelösungen konnte Zipf[11] beim Aufträufeln auf das Mesenterialgebiet des Warmblüters in vivo unter mikroskopischer Beobachtung eine hemmende Wirkung dieser Stoffe gegenüber der folgenden Adrenalinreaktion feststellen. Für Padutin stellten ferner Sivo und v. Dokozy[12] bei Durchströmungsversuchen am Froschgefäßpräparat einen Antagonismus gegen das Adrenalin fest.

Unsere Ergebnisse in Tabelle 2 zeigen demgegenüber, daß mit Konzentrationen, welche schon eine gefäßerweiternde Wirkung an der Durchströmungsbeschleunigung erkennen lassen, noch keine Aufhebung oder Abschwächung der Adrenalinreaktion erfolgt. Die Konzentrationsangaben sind dabei für die reine Muskeladenylsäure in absoluten Mengen, für die anderen Präparate dagegen in Verdünnungen der Ampullenlösungen durchgeführt.

Tabelle 2. Gefäßwirksame Stoffe.

Präparate	Geprüfte Verdünnungen	Grenzkonzentration	Gefäßerweiterung	Adrenalinhemmung
Muskeladenylsäure	1/30000—1/2000	1/5000—1/10000	ja	nein
Nukleotrat	1/2000 —1/300	1/1000—1/300	unsicher	„
Lakarnol	1/1000 —1/200	1/500 —1/300	ja	„
Padutin	1/500 —1/200	1/500	„	„

Die Tatsache, daß die verschiedenen Präparate die Durchflußgeschwindigkeit beschleunigen, spricht, da diese von dem Tonus der Arteriolen und nicht von der Kapillarweite abhängig ist, dafür, daß sie auch auf das Arteriolengebiet erweiternd wirken können. Der fehlende Antagonismus zum Adrenalin kann vielleicht so gedeutet werden, daß diese dilatierende Wirkung nicht über eine einfache Lähmung der vasokonstriktorischen

[7] Freund, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **86**, 266 (1920); **88**, 39 (1920). — [8] Zipf, K.: Klin. Wschr. 1931, S. 10 u. 521. — [9] Fleisch, A.: Schweiz. med. Wschr. 1938, Nr. 4. — [10] Friedländer: Inaugural Dissertation Düsseldorf 1931. — [11] Zipf, K., u. W. Giese: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **171**, 111 (1933). — [12] Sivo u. V. Dokozy: Klin. Wschr. 1937, S. 1602.

Muskulatur zustande kommt. Der von Zipf beschriebene Antagonismus wurde übrigens nur am Kapillargebiet beobachtet und nicht quantitativ festgelegt. Hier ist jedenfalls für diese Gruppe von Wirkstoffen als Ergebnis festzuhalten, daß sie im „physiologischen Konzentrationsbereich" die Adrenalinreaktion nicht hemmten*.

Diese Feststellung hat auch eine gewisse physiologische Bedeutung. Wir wissen heute aus Reins Untersuchungen, daß kleine Adrenalindosen nur an nichtarbeitenden Organgebieten gefäßverengernd wirken, daß aber im arbeitenden Organ z. B. in der Muskulatur diese Wirkung ausbleibt und sogar durch eine Erweiterung ersetzt werden kann, wodurch eine physiologische Blutverteilung bei der Arbeitsleistung ermöglicht wird. Es schien nicht ausgeschlossen, daß diese Aufhebung der Adrenalinwirkung auch durch ein Überwiegen der im tätigen Muskel gebildeten gefäßaktiven Stoffe bewirkt wird. Die neuen Befunde sprechen aber doch gegen diese Deutung.

B. Narkotica.

Narkotica verursachen bei Überdosierung Kollapszustände, bei denen die Lähmung des Vasomotorenzentrums als wesentliche Ursache zu betrachten ist. Immerhin ist eine Beteiligung der Ausschaltung des peripheren Gefäßtonus (Verminderung der Ansprechbarkeit auf sympathische Reize) wohl auch bei hohen Dosierungen von Narkotica nicht auszuschließen. So ist z. B. auch für tiefe Äthernarkosen die Adrenalinempfindlichkeit und für Pernoctonnarkosen die Empfindlichkeit für Tonephin als vermindert nachgewiesen worden (Haferkorn und Lendle[13]). Es mag hier auch spezifische Unterschiede in der Wirksamkeit narkotischer Stoffe geben. Für Veronal wird z. B. seit den Untersuchungen von Jacoby[14] eine besondere kapillarschädigende Eigenschaft angenommen, auch für das Urethan finden sich gelegentlich solche Angaben.

Tabelle 3. Narkotica.

Substanz	Geprüfte Verdünnungen	Grenzkonzentration	Gefäßerweiterung	Adrenalinhemmung
Äthylalkohol	1/100—1/10	1/50—1/30	ja	ja
Urethan	1/300—1/200	1/300	„	„
Veronal	1/100—1/1	1/20—1/10	„	nein

Tabelle 3 bringt einige Ergebnisse der Untersuchungen. Das Veronal wurde dabei nicht als Natriumsalz geprüft, weil die Adrenalinwirkung bei

* Anmerkung: Einige ergänzende Versuche mit höchsten Konzentrationen dieser gefäßaktiven Stoffe ließen auch keine deutlichere Abschwächung der Adrenalinempfindlichkeit erkennen. So blieb z. B. Adrenalin nahezu vollwirksam unter 30—60 Min. langer Durchströmung von M. A. P. 1:5000 bis 1:1000, von Padutin 1:200 bis 1:50 und Lacarnol 1:200 bis 1:50.

[13] Haferkorn u. Lendle: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **172**, 501 (1933). — [14] Jacoby, G.: Ebenda **66**, 296 (1911).

alkalischer Reaktion der Lösungen verändert werden könnte (Sensibilisierung und Zerstörung). Die Konzentrationsangaben für Veronal beziehen sich auf Verdünnungen der gesättigten Lösungen (etwa 0,69%).

Die Befunde zeigen, daß die Narkotica doch erst in verhältnismäßig hohen Konzentrationen einen direkten Einfluß auf die Durchströmungsgeschwindigkeit und die Adrenalinempfindlichkeit besitzen. Die oben erwähnte Beteiligung der Peripherie bei der Narkoseüberdosierung mag also vielleicht weniger die Gefäße als die etwaigen peripher gelegenen Gefäßzentren betreffen. Im übrigen zeigen die Versuche für das Urethan und den Äthylalkohol ein Parallelgehen der Gefäßlähmung und der Verminderung der Adrenalinempfindlichkeit. Beim Veronal besteht dagegen eine Abweichung. Hier wirkten $^1/_{20}-^1/_{10}$ gesättigte Lösungen dilatierend, aber mit $^1/_1$ gesättigten Lösungen war die Adrenalinempfindlichkeit noch nicht zu vermindern. Hier liegt also ein ähnliches Verhalten vor wie oben bei den gefäßaktiven Stoffen.

C. Digitoxin und Strophanthosid.

Im allgemeinen wird heute nur noch selten angenommen, daß die Digitalisglykoside im Bereich therapeutischer Dosierungen eine extrakardiale Wirkung auf das periphere Gefäßsystem besitzen. Aus tierexperimentellen Untersuchungen sind für höhere Dosierung aber auch Digitaliswirkungen am Gefäßsystem bekannt. Es kommt zu Verengerungen über einen direkten Angriff an der glatten Muskulatur der Gefäße. Im Verlauf dieser Versuche wurden auch einige Prüfungen mit Digitoxin und dem neuen Strophanthosidpräparat, dem genuinen Glykosid aus k-Strophanthus, ausgeführt. Diese Versuchsergebnisse haben vielleicht eine gewisse theoretische Bedeutung im Rahmen neuer Vorstellungen über die Beeinflussung der „Potentialstoffwirkungen" des Adrenalins (Gremels[15]), worüber später noch berichtet werden soll.

Unsere Versuche führten zu dem Ergebnis, daß beide Glykoside in Verdünnungsbereichen von 1 : 50 Millionen bis 1 : 200000 keine Veränderung der Adrenalinempfindlichkeit veranlassen. Dagegen trat in Konzentrationen von 1 : 1 Millionen bis 1 : 200000 eine Gefäßverengerung mit Durchströmungsverlangsamung ein. Diese Wirkung war bei der Umschaltung auf Ringerlösung leicht reversibel. Die Bindung an den Gefäßen scheint also weniger fest zu sein als am Herzen.

D. Antipyretica.

Antipyretica wirken nach den allgemeinen Erfahrungen über das Wärmeregulationszentrum auf die peripheren Gefäße erweiternd. Ferner wird ihnen vielfach auch eine spasmolytische Komponente zugeschrieben, also eine lähmende Wirkung auf die glatte Muskulatur, die sich auch an den

[15] Gremels, H.: Erg. Physiol. **42**, 53 (1939).

Gefäßen geltend machen kann. Einige gelegentliche Untersuchungen zeigten, daß z. B. Pyramidon eine ganz ausgesprochene gefäßlähmende und adrenalinantagonistische Eigenschaft am isolierten Ohrgefäßpräparat besitzt*. Diese Feststellung war aber schon vor einer Reihe von Jahren von Januschke und Lasch[16] beobachtet und genauer analysiert worden. Die Wirkung ist nicht im Sinne einer spezifischen Sympathicuslähmung aufzufassen, sondern allgemeiner als eine Lähmung der glatten Muskulatur wie bei anderen spasmolytischen Reaktionen.

Wir erweiterten diese Beobachtungen mit Pyramidon für eine Reihe weiterer Antipyretica. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe sind in Tabelle 4 kurz zusammengefaßt.

Tabelle 4. Antipyretica.

Substanz	Geprüfte Konzentration	Wirksame Grenzkonzentration	Gefäßerweiterung	Adrenalinempfindlichkeits-Verminderung
Antipyrin.....	1/10000—1/100	1/1000—1/500	ja	ab 1/300 ja
Pyramidon.....	0,30—0,03 %	0,03—0,10 %	„	ja
Salizylsaures Na Natrium	1/50000—1/300	1/2000—1/1000	„	„
Chinin. hydr....	1/300000—1/10000	1/200000—1/100000	„	„

Die Befunde deuten darauf hin, daß einige wichtige Antipyretica zum Teil schon in hohen Verdünnungen, wie sie bei der üblichen therapeutischen Dosierung in vivo schon in Frage kommen mögen, eine spezifische gefäßerweiternde Wirksamkeit besitzen und in gleichen Konzentrationen auch die Adrenalinwirkung abschwächen. Alle diese Reaktionen erwiesen sich als gut reversibel. Versuche mit Phenacetin waren jedoch weniger erfolgreich. Dieser Stoff mußte wegen der geringen Löslichkeit aus alkoholischen Stammlösungen in Verdünnungen gebracht werden, wobei die notwendigen Alkoholbeimengungen noch ihre eigene Gefäßwirkung entfalten konnten (vgl. S. 126). Verschiedene Phenacetinkonzentrationen wirkten nach Kontrollversuchen nicht stärker lähmend am peripheren Gefäß als die in diesen Konzentrationen enthaltenen Alkoholmengen. Phenacetin dürfte danach keine sicher nachweisbare Wirkung besitzen.

* Anmerkung: Diese Beobachtung steht vielleicht im Widerspruch zu der Auffassung Eppingers (Seröse Entzündung, Wien, 1935), daß Pyramidon gefäßdichtende Eigenschaften besitzen soll. Jedenfalls gibt G. Schneider (Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 56, 1935) nach Zitaten japanischer Arbeiten (Fujimori und Ida) an, daß Antipyrin die Gefäße verengere und nach eigenen Erfahrungen erst ab 20 % Lösung dilatierend wirke. Wir konnten am durchströmten Froschschenkelgefäß auch eine verengernde Wirkung feststellen, niemals aber am Kaninchenohr. Eine Erklärung für dieses unterschiedliche Vorhalten können wir nicht geben.

[16] Januschke u. Lasch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **114**, 75 (1926).

E. Coffein und Nitrite.

Coffein und Nitrite gelten in der Therapie als Mittel für die Bekämpfung spastischer Gefäßzustände (Migräne, Angina pectoris), deren gefäßerweiternde Wirksamkeit auch auf eine periphere Wirkungsweise zurückgeführt wird. Für das Coffein ist auch schon von Junkmann und Stross[17] nachgewiesen worden, daß es gegen die Adrenalinwirkung an der Gefäßmuskulatur antagonistisch wirksam ist. Es ist ihm auch schon gelegentlich eine sympathicuslähmende Eigenschaft zugeschrieben worden. Diese allgemeine Feststellung dürfte aber nicht genügend begründet sein, wenigstens nicht für alle Organe Gültigkeit besitzen.

Tabelle 5.

Substanz	Geprüfte Konzentration	Wirksame Grenzkonzentration	Gefäßerweiterung	Adrenalinempfindlichkeits-Verminderung
Coffein	0,1—0,01 %	0,012—0,015	ja	ja
Natriumnitrit ..	1/50000—1/2000	1/50—30000	„	ja ab 1/20000

Nach den Befunden in Tabelle 5 wirken beide Stoffe deutlich dilatierend und adrenalinantagonistisch. Beim Coffein ist, gemessen an der Grenzkonzentration, die Verminderung der Adrenalinempfindlichkeit vielleicht etwas stärker als die direkt gefäßerweiternde Wirkung, beim Nitrit vielleicht eher umgekehrt.

F. Borsäure und Brechweinstein.

Die Stoffe dieser Gruppe haben verwandtschaftliche Beziehungen zum Arsen, welches als typisches Kapillargift gilt und von dem neuerdings von Heite[2] am Froschgefäßpräparat gezeigt worden ist, daß es in Verdünnungen bis zu 1 : 2 Millionen, besonders bei längerer Durchströmung, die Adrenalinempfindlichkeit vermindern kann, ohne daß dabei eine deutliche Durchströmungsbeschleunigung auftritt.

Tabelle 6.

Substanz	Geprüfte Konzentration	Wirksame Grenzkonzentration	Gefäßerweiterung	Adrenalinempfindlichkeits-Verminderung
Borsäure.....	1/10000—1/50	1/500—1/200	ja	mäßig
Brechweinstein .	1/10000—1/100	1/300—1/100	gering	ja

Beide Verbindungen wirkten bei diesen kurzfristigen Durchströmungsversuchen (25—30 Minuten) erst in relativ hohen Konzentrationen schädigend. Dabei schien die gefäßerweiternde Wirksamkeit nur geringgradig zu

[17] Junkmann u. Stross: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **114**, 311 (1926).

sein und die Adrenalinempfindlichkeit wurde selbst bis zu höchsten Konzentrationen von 1 : 50 oder 1 : 100 nicht so stark vermindert wie mit den vorher beschriebenen Stoffen. Unter Borsäure war die Adrenalinempfindlichkeit maximal auf $^1/_5$ gesenkt, unter Brechweinstein bis auf $^1/_{10}$. Bei der Durchströmung mit Brechweinsteinlösungen trat übrigens in den hohen Konzentrationen schon eine deutliche Trübung auf, wodurch auch die Durchströmungsgeschwindigkeit nach anfänglicher Beschleunigung wieder herabgesetzt wurde. Die lähmende Wirkung der beiden Stoffe war nur in mäßigem Grade reversibel.

G. Monobromessigsäure, Dichlordiäthylsulfid und Allylformiat.

In diesem Abschnitt sind kurz die Ergebnisse der Prüfung einiger Giftstoffe zusammengefaßt, die häufig auch als typische Kapillargifte betrachtet werden. Für das Allylformiat haben z. B. Eppinger[18] und Mitarbeiter nachgewiesen, daß es das Vergiftungsbild der „serösen Entzündung" auf Grund eines „protoplasmatischen Kollapses" auszulösen vermag. Für die Monobromessigsäure wird in ähnlicher Weise von Rühl[19] nach Versuchen am Herz-Lungenpräparat eine Schädigung der Kapillarpermeabilität angenommen, welche zum Präödem führen kann. Von Neuss[20] ist freilich bei Durchströmungsversuchen mit monobromessigsaurem Natrium keine spezifische Gefäßschädigung festgestellt worden.

Auch für den Gelbkreuzstoff Lost ist die Beteiligung einer Gefäßschädigung am Wirkungsbild bekannt. Gelegentlich von Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus von Dichlordiäthylsulfid (noch unveröffentlicht) haben wir neben Lost auch seine Oxydationsstufen Lostsulfon und Sulfoxyd geprüft. Hier sollen von diesen Ergebnissen nur einige Tatsachen herausgegriffen werden. Durchströmungsversuche mit Lost selbst wurden nicht ausgeführt, weil seine Spaltung in wässeriger Lösung eine genauere quantitative Angabe unmöglich macht und gewisse Nebenwirkungen bedingen kann. Bei der Applikation von Lost in vivo auf das Kaninchenohr und anschließender Durchströmung dieser Ohren ließ sich die Gefäßlähmung wohl erkennen, aber die Adrenalinempfindlichkeit der Ohrgefäße war nicht sicher abgeschwächt im Vergleich zu dem Verhalten des Kontrollohres.

Lostsulfon und -sulfoxyd wurden in wässeriger Lösung mit geringem Alkoholgehalt zur Durchströmung verwendet. Es ergab sich dabei, daß das Sulfoxyd in Konzentrationen bis 1 : 5000 auch während langer Beobachtungszeit die Adrenalinempfindlichkeit nicht verminderte. Die Durchflußgeschwindigkeit zeigte dabei in verschiedenen Versuchen auch keine konstanten Veränderungen. Das Lostsulfon wirkte dagegen schon in Konzentrationen von 1 : 10000 bis 25000 schädigend. Die Adrenalin-

[18] Eppinger, H.: Seröse Entzündg., Wien, 1935. — [19] Rühl: Z. exper. Med. **100**, 306 (1937). — [20] Neuss: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **160**, 551 (1931).

empfindlichkeit sank auf $^1/_5$ bis $^1/_{20}$ des Ausgangswertes. Eine Zerstörung des Adrenalins bei Injektion in die Lösung konnte ausgeschlossen werden, weil die Hemmung auch bei anschließender Ringerdurchströmung irreversibel erhalten blieb.

Monobromessigsaures Natrium zeigte bei Durchströmungsversuchen mit Konzentrationen bis 1 : 2000 keine gefäßlähmende Wirksamkeit. Die Adrenalinempfindlichkeit blieb erhalten. Mit den stärkeren Konzentrationen trat sogar eine reversible Verengerung der Gefäße auf.

Allylformiat löste bei Durchströmungen mit Konzentrationen ab 1 : 1000—1 : 500 sehr bald eine Aufhebung der Adrenalinempfindlichkeit aus mit gleichzeitiger, zum Teil aber unsicherer Erweiterung der Gefäße. Bei Umschaltung auf Ringer war nur die Erweiterung reversibel, die Hemmung der Adrenalinempfindlichkeit war irreversibel. Bei Vergiftungen in vivo mit Allylformiat waren die Gefäße nach den Ergebnissen der Ohrgefäßdurchströmung mit Prüfung der Adrenalinempfindlichkeit nur bis zu einem mäßigen Grade geschädigt (vgl. spätere Mitteilung).

H. Erörterungen über quantitative Wirkungsbeziehungen.

In den vorausgehenden Abschnitten ist für eine Reihe von gefäßwirksamen Stoffen und Kapillargiften eine antagonistische Wirkung zum Adrenalin nachgewiesen worden, die zum Teil bei der gleichen Dosierung in Erscheinung tritt, wie eine gefäßerweiternde Wirkung, gemessen an der Durchflußbeschleunigung.

Bei der Durchsicht der geprüften Stoffe lassen sich dabei wohl drei Gruppen unterscheiden, bei denen gewisse Unterschiede im Verhalten bestehen:

I. Gruppe: Die Adrenalinempfindlichkeit wird in der gleichen Konzentration gehemmt, mit welcher eine Dilatation erzielt wird. Hierher gehören Narkotica, Antipyretica, Chinin und Coffein.

II. Gruppe: Die Adrenalinempfindlichkeit wird erst mit höheren Konzentrationen gehemmt als für die Dilatation notwendig sind oder praktisch überhaupt nicht. Hierher gehören alle sogenannten Kreislaufhormone, das Veronal und vielleicht auch die Nitrite.

III. Gruppe: Die Adrenalinempfindlichkeit wird mit Konzentrationen gehemmt, welche kaum dilatierend wirken. Die Verminderung der Adrenalinempfindlichkeit schreitet zeitgebunden fort und ist irreversibel, während sie bei Gruppe I und II konzentrationsgebunden und reversibel erscheint. Hierher gehören die typischen „Kapillargifte", wie Arsen, Brechweinstein, Borsäure, Allylformiat, Sulfon usw.

Man könnte den Wirkungsmechanismus der Pharmaca in diesen drei Gruppen vielleicht auf Grund ihres geschilderten Verhaltens charakterisieren. Mit Bestimmtheit kann wohl gesagt werden, daß die letzte Gruppe Gifte enthält, die wohl ziemlich unspezifisch und irreversibel die Reaktionsfähigkeit der Gefäßmuskulatur zerstören, ohne selbst eine

lähmende Wirkung auf die Gefäßnerven und das Muskelsystem auszuüben. In Gruppe I dürften Pharmaca enthalten sein, welche das Erfolgsorgan, nämlich die glatte Muskulatur im Arteriolengebiet lähmen und damit dem nervösen Tonus und der Adrenalinwirkung im gleichen Konzentrationsgebiet zu entziehen vermögen.

Die Pharmaca aus Gruppe II sind wohl auch deutlich von denen aus Gruppe I abzugrenzen. Man kann die Tatsache, daß die Adrenalinempfindlichkeit auch mit höheren Konzentrationen als mit welchen der noch vorhandene Vasokonstriktorentonus gelähmt wird, kaum beeinträchtigt wird, darauf zurückführen, daß hier eine Ausschaltung des Nerventonus vor der Lähmung des glatten Muskels als Erfolgsorgan für das Adrenalin erfolgt. Diese Möglichkeit müßte aber noch am innervierten Ohrgefäßpräparat weitergeführt werden. Eine etwaige erregende Wirkung der Dilatatoren ist unwahrscheinlich.

Eine weitere quantitative Betrachtung läßt sich an folgende Feststellung in den vorausgehenden Befunden anknüpfen: Mit steigender Konzentration wird im allgemeinen die Hemmung der Adrenalinempfindlichkeit immer größer bis zur völligen Aufhebung. Dieser Anstieg der Wirkung in Abhängigkeit von der Konzentration findet sich in der Gruppe III der zeitgebunden wirksamen Stoffe allerdings nur angedeutet, während die Mittel aus der Gruppe I hierfür besonders klare Beispiele liefern.

Bei einer genauen Beurteilung der Abhängigkeitsverhältnisse der gegenseitigen Dosierung ergibt sich dabei die Tatsache, daß diese Beziehung nicht linearer Natur ist. Die Adrenalinempfindlichkeit, gemessen an der Grenzdosis von Adrenalin, sinkt viel schneller als der Konzentrationserhöhung des lähmenden Mittels entspricht. Hierfür sind in Tabelle 7 einige Beispiele aus den Einzelprotokollen ausgewählt.

Die stärkere Abnahme der Adrenalinempfindlichkeit mit steigenden Konzentrationen beruhte übrigens nicht auf einer fortschreitenden zusätzlichen Schädigung bei solchen Prüfungen. Durch Ringerdurchströmung ergab sich nämlich in solchen Versuchen immer, daß diese höchsten Lähmungen reversibler Natur waren. Selbst wenn die Lähmung so stark war, daß die Injektion von 0,1 ccm Adrenalin 1 : 1000 ohne Verengerung blieb, so war dieser Effekt doch meist weitgehend oder sogar vollkommen reversibel und eine schädliche Adrenalinwirkung war ausgeblieben. Die bekannte lähmende Wirkung hoher Adrenalingaben ist also auch an die Möglichkeit einer vorausgehenden Adrenalinauswirkung am intakten Präparat gebunden; sie ist also funktionell und nicht einfach chemisch bedingt.

Welche Deutung kann man nun dem vorausgehend beschriebenen Dosiswirkungsbeziehungen im Antagonismus zum Adrenalin zuschreiben.

Zunächst könnte man die Auffassung vertreten, daß mit steigenden Dosierungen eines lähmenden Giftes der Lähmungsgrad nicht im gleichen linearen Verhältnis zunimmt, sondern stärker. Für echte narkotische Stoffe ist eine solche Möglichkeit bisher wohl nicht nachgewiesen worden. An

Tabelle 7. Dosiswirkungsbeziehungen.

Stoff	Konzentration	Adrenalin-empfindlichkeit	Konzentrations-verhältnis	Adrenalin-dosis-verhältnis
Chinin. hydrochlor. ...	1/200 000	1/2		
	1/100 000	1/4		
	1/50 000	1/20		
	1/25 000	1/100		
	1/10 000	1/10 000	1 : 20	1 : 5 000
Antipyrin	1/500	1/2		
	1/300	1/5		
	1/200	1/100		
	1/100	1/250	1 : 5	1 : 120
Natrium salicylicum ..	1/2000	1/2		
	1/1000	1/4		
	1/500	1/50		
	1/300	1/200—500	1 : 7	1 : 150
	1/1000	1/2		
	1/500	1/20		
	1/300	1/40		
Natriumnitrit	1/20 000	1/2—1/4	1 : 3	1 : 20
	1/10 000	1/10—1/20		
	1/5000	1/20		
	1/2000	1/100		
	1/20 000	1/2	1 : 10	1 : 50
	1/10 000	1/4		
	1/5000	—		
	1/2000	1/20—40	1 : 10	1 : 15

meßbaren Zellfunktionen (Zellatmung) wurde dagegen von Warburg[21] eine lineare Abhängigkeit gefunden. An der Atmungsleistung (Minutenvolumen) des Kaninchens wurde für Pernocton eine lineare Beziehung (Lendle[22]) und für Morphin eine Exponentialkurve ermittelt. Dabei war aber die Morphinwirkung mit kleineren Dosen relativ groß und nahm mit deren Erhöhung nur wenig zu. Ähnliche Dosiswirkungsbeziehungen wurden auch für Narkotica von Storm van Leeuwen[23] dargestellt. Danach ist es etwas unwahrscheinlich, daß spasmolytische Stoffe im obigen Sinne wirksam werden sollten. Auch die Annahme, daß zu der lähmenden Wirkung bei höheren Dosierungen noch eine zusätzliche Schädigung treten könnte, ist nicht zu begründen, da ja die Wirkung dieser Konzentrationen völlig reversibel war.

Umgekehrt könnte man nun für die Dosiswirkungsbeziehung des Adrenalins davon ausgehen, daß diese einer exponentiellen Funktion entspricht, daß also höhere Dosen nicht entsprechend höhere Reize bedeuten, sondern daß der Reizzuwachs mit steigenden Dosen zurückbleibt. Ein solches

[21] Warburg, O.: Zit. nach Winterstein, Narkose, Berlin 1926. — [22] Lendle, L.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **144**, 76 (1929). — [23] Leeuwen, Storm van, und Le Heux: Pflügers Arch. **177**, 250 (1919).

Verhältnis besteht nun tatsächlich, wie es z. B. von Rosenblueth[24] im Blutdruckversuch und an der Nickhaut der Katze und von Gremels[25] am Sauerstoffverbrauch des Herzmuskels nachgewiesen werden konnte. Zur Erklärung solcher Beobachtungen ist mehrfach auf das bekannte Weber-Fechnersche Gesetz hingewiesen worden, nach welchem auf Grund von Erfahrungen im Bereich der Sinnesfunktionen ein gleicher Reizzuwachs bei geringen Reizgrößen deutlich wirksam wird, nicht aber im Bereich höherer Reizgrößen. Der Reizzuwachs, der eine verstärkte Reaktion auslösen soll, muß also in Abhängigkeit von den jeweiligen Reizzustand stehen. Praktisch ist eine solche Beziehung auch schon für manche pharmakologische Reaktionen nachgewiesen worden. Eine bestimmte Adrenalindosis selbst wirkt bei gesenktem Blutdruckniveau deutlicher als unter normalen Bedingungen.

Gremels[25] hat für dieses Verhalten des Adrenalins eine neue Erklärungsmöglichkeit gegeben. Er geht von der Auffassung aus, daß das Adrenalin im Sinne Straubs[26] ein Potentialgift ist, dessen Wirkung nicht auf der Bindung des Giftstoffes, sondern auf dem Durchtritt durch die Membran der Zelle beruht, wobei das Gefälle den Grad der Wirkung bestimmt. Die Tatsache, daß das Adrenalin in der Zelle leicht zerstört werden kann, erleichtert diese Wirkungsbedingungen, weil dadurch das Gefälle nicht so schnell durch die Diffusion ausgeglichen werden kann. Wenn nun aber steigende Dosen Adrenalin verabreicht werden, dann kann die Zerstörung zu gering sein, so daß bei schneller Diffusion das Potential verhältnismäßig kleiner wird, weil ja in der Zelle der Adrenalinspiegel auch schnell ansteigt. In dieser Weise würde es sich erklären, daß es eine gewisse Grenzdosierung von Adrenalin gibt, deren Überschreitung keine Verstärkung der Wirkung mehr ermöglicht.

Für die zu erörternde antagonistische Wirkungsbeziehung zwischen Chinin und Adrenalin dürften aber auch diese beiden Hypothesen kaum zureichende Erklärungen bieten. Das Weber-Fechnersche Gesetz schon deswegen nicht, weil ja in allen Fällen der Erregungszustand des Erfolgsorganes ein geringer ist, unter hohen Chininkonzentrationen sogar ein minimaler. Es müßten also kleine Dosierungssteigerungen von Adrenalin schon erkennbar werden. Ebenso wie die „funktionelle" Deutung versagt aber auch die chemische Betrachtung nach Gremels, denn nach seinen Angaben ist die „Grenzwirkungsmenge" von Adrenalin, deren Überschreitung keinen Wirkungszuwachs mehr bedeutet, nur um ein Weniges höher als die untersten, gerade wirksamen Dosen. In unseren Versuchen war aber mit steigenden Adrenalindosierungen immer noch ein Effekt zu erreichen, wenn auch schon die tausendfache Dosis gegeben werden mußte. Es gibt übrigens auch noch andere Gründe, die gegen die Auffassung

[24] Rosenblueth: Amer. J. Physiol. **109**, 209 (1932). — [25] Gremels, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 1 (1936). [26] Straub, W.: Pflügers Arch. **119**, 227 (1907).

sprechen, daß die Adrenalingefäßreaktion überhaupt im Sinne der Potentialgifttheorie aufzufassen ist, worüber später noch berichtet werden soll.

Es scheint uns nach der vorausgegangenen Darstellung noch nicht möglich, zu erklären, in welcher Weise diese Wirkungsverhältnisse bei der antagonistischen Dosierung von Adrenalin und Chinin zu verstehen sind. Nach der praktischen Seite der Dosierung können sie vielleicht eine gewisse Bedeutung besitzen, z. B. im Hinblick auf die Behandlung von Kollapszuständen, welche durch gefäßlähmend wirksame Stoffe (z. B. Toxine) ausgelöst sind.

Zusammenfassung.

Bei der Prüfung der Frage, welche Konzentrationen von gefäßwirksamen Pharmaca am durchströmten, isolierten Kaninchenohr dilatierend und welche auf die Adrenalinempfindlichkeit abschwächend wirken, wurden nach ihrem verschiedenen Verhalten drei Gruppen von Pharmaca unterschieden:

1. Mittel, welche vermutlich vorwiegend auf das Erfolgsorgan den glatten Muskel lähmend wirken, und daher in gleichen Konzentrationen die Gefäße erweitern und die Adrenalinempfindlichkeit vermindern. Dazu gehören Narkotica, Antipyretica, Chinin, Coffein.
2. Mittel, welche auch in höheren Konzentrationen die Adrenalinempfindlichkeit kaum beeinflussen, aber in kleinen Konzentrationen schon gefäßerweiternd wirken. Dazu gehören die sogenannten körpereigenen Kreislaufhormone (Adenosinderivate), Veronal, und vielleicht auch die Nitrite.
3. Mittel, welche als typisch irreversibel kapillarschädigende Stoffe die Adrenalinempfindlichkeit erst nach längerer Einwirkungszeit aufheben, ohne, selbst in höheren Konzentrationen, die Ohrgefäße deutlich zu erweitern. Hier gehören Arsenit, Brechweinstein, Borsäure, Allylformiat, Lostsulfon u. a.

Für die Mittel der Gruppe 1 wurde ferner als typisch festgestellt, daß mit der Durchströmung steigender Konzentration die Abschwächung der Adrenalinempfindlichkeit immer stärker zunahm bis zur völligen, aber noch immer reversiblen Aufhebung der Adrenalinempfindlichkeit. Die theoretischen Deutungsmöglichkeiten dieser nichtlinearen Wirkungsbeziehungen werden erörtert.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster/Westf. (Direktor: Prof. Dr. med. L. Lendle).

Der Einfluß der gebräuchlichen Nahrungskonservierungsmittel auf die hormonalen Sexualfunktionen der weiblichen Ratte.

Von

Dr. med. **Hans Puhlmann**, Assistent.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 14. Juni 1939.)

Zur Erreichung einer sicheren und möglichst unschädlichen Haltbarmachung von sonst leicht verderblichen Lebensmitteln sind eine begrenzte Anzahl von chemischen Stoffen gesetzlich zur Konservierung zugelassen. Trotzdem es sich bei der Verwendung solcher Stoffe mengenmäßig meist nur um so geringe Zusätze handelt, daß sie oft nicht einmal mit Hilfe der mikrochemischen Analyse nachgewiesen werden können, wird von einzelnen Autoren immer wieder in verschiedenster Hinsicht ein gesundheitsschädigender Einfluß dieser Stoffe behauptet.

So glaubte Liek[1] die allgemeine Zunahme der Krebskrankheit während der letzten 50—60 Jahre z. T. auf den sich „immer weiter ausdehnenden regelmäßigen Genuß von chemisch konservierten Nahrungsmitteln" zurückführen zu müssen. Diese Behauptung konnte bisher weder statistisch sicher belegt noch experimentell bewiesen werden. In wenig objektiver Weise setzt sich Lenzner[2] mit dem Problem der chemischen Konservierung auseinander. Die von verschiedenen Seiten gegen ihn erhobenen Einwände, daß Zusätze von allgemein gebräuchlichen Konservierungsmitteln in den für die Konservierung tatsächlich in Frage kommenden Konzentrationen, im Tierversuch über längere Zeit gegeben, bisher im allgemeinen keine nachweisbaren Schäden verursacht haben, glaubt Lenzner allein damit widerlegen zu können, daß er behauptet, die Unschädlichkeit könne noch lange nicht angenommen werden, wenn einige Zeit nach der Zuführung keine Krankheitserscheinungen auftreten.

Demgegenüber vertreten andere Autoren, insbesondere Süpfle[3], Reiche[4], Scheunert[5], Tjaden[6], Knorr[7] u. a. m. den Standpunkt,

---

[1] Liek, E.: Krebsverbreitung, Krebsbekämpfung, Krebsverhütung. München 1932. — [2] Lenzner, C.: Gift in der Nahrung. Verlag der Dykschen Buchhandlung. Leipzig 1933. — [3] Süpfle: Fschr. Ther. **21**, 641 (1931). — [4] Reiche, A.: Dtsch. med. Wschr. **38**, 1620 (1931). — [5] Scheunert, A.: Ebenda **20**, 835 (1931). — [6] Tjaden: Z. Fleisch- u. Milchhyg. **43**, 183, 1933. — [7] Knorr, M.: Kurse ärztl. Fortbild. **10**, 1 (1937).

daß geringe Mengen der üblichen Konservierungsmittel im normalen Organismus — auch wenn sie demselben längere Zeit zugeführt werden — keinen objektiv nachweisbaren Schaden verursachen und somit die Konservierung von Nahrungsmitteln sowohl vom gesundheitlichen als auch vom volkswirtschaftlichen Standpunkt aus notwendig ist und deshalb zu bejahen sei.

Kluge[8] stellte Versuche an über den Einfluß verschiedener Konservierungsmittel auf die Wirkung von stärke-, fett- und eiweißspaltenden Fermenten. Die Wirkung von stärke- und fettspaltenden Fermenten wird hiernach nicht beeinflußt, dagegen wird die Wirkung des eiweißspaltenden Ferments Pankreatin durch Formalin, Salicylsäure, Natriumsulfit, Natriumfluorid, Benzoesäure und deren Derivate gehemmt. Nach König[9] wird durch Benzoesäure und Hexamethylentetramin auch die eiweißabbauende Wirkung des Pepsins gehemmt. Beide Untersucher verwandten in ihren Versuchen allerdings unverhältnismäßig starke Konzentrationen von Konservierungsmitteln. Liese[10] hat sich mit der Nachprüfung solcher angeblichen Hemmungen von Verdauungsenzymen beschäftigt und festgestellt, daß eine spezifische Hemmungswirkung — 0,4% Kochsalz haben dieselbe Wirkung — sicher nicht besteht. Weiterhin hat sich Rost[11] in seinen neueren Untersuchungen sehr eingehend mit der Frage der chemischen Konservierung beschäftigt. Auch er ist zu dem Ergebnis gekommen, daß, wenn im Experiment toxische Schäden auftreten, fast stets unphysiologisch große Mengen zur Einwirkung gekommen waren.

Neben der Frage einer direkten Schädigung des Organismus durch Konservierungsmittel, wobei einzelne Organe oder physiologische Funktionen durch direkte Einwirkung beeinflußt werden, ist auch die einer indirekten Schädigung, und zwar durch Verminderung des Nahrungswertes, z. B. durch Zerstörung von Vitaminen, zu berücksichtigen. Hierzu haben Kramer[12], Eddy[13], Scheunert[5] u. a. m. festgestellt, daß der Vitaminverlust, insbesondere des Vitamins C, gerade bei Obst und Gemüsen, die nach den üblichen Methoden des Haushalts konserviert werden, um ein Vielfaches größer ist, als der bei fabrikmäßiger Herstellung von Obst- und Gemüsekonserven. Reiche[4] sowie Langer[14] und Mitarbeiter haben auf Grund von klinischen Untersuchungen den Beweis erbracht, daß Säuglinge und Kleinkinder monatelang mit Gemüsekonserven ernährt werden können, ohne daß Zeichen einer Gesundheitsschädigung, insbesondere einer Vitaminverarmung, auftreten. Tierversuche von Kluge[8] an Meerschweinchen, die neben erhitztem Hafer und Heu als Grundkost die

---

[8] Kluge, H.: Z. Unters. Leb.mitt. **66**, 412 (1933). — [9] Koenig, W.: Chem.-Ztg. **97**, 934 (1931). — [10] Liese, W.: Ebenda **32**, 315 (1933). — [11] Rost, E.: Handbuch der Lebensmittelchemie, Bd. I, 993. — [12] Kramer, M. H.: Ind. Chem. **21**, 859 (1929). — [13] Eddy, W. H.: Ind. chem. **18**, 85 (1926). — [14] Langer, H.: Dtsch. med. Wschr. **20**, 839 (1931).

zum Leben gerade erforderliche Menge Apfelsinensaft mit und ohne Benzoesäure und Natriumbenzoat erhielten, ergaben, daß geringe Mengen Benzoesäure, die aber immer noch bei weitem größer waren als die den gesetzlich zugelassenen Konzentrationen entsprechenden Mengen, bei gesunden Tieren keine gesundheitsschädigenden Wirkungen im Sinne eines Skorbuts hervorriefen.

Ausgehend von der Erfahrung, daß eine Anzahl von Giften, wie z. B. Morphin und Nikotin, schon in sehr kleinen Gaben auf den Ablauf des Menstruationscyclus bei der Frau einen direkt schädigenden Einfluß haben, erschien es uns im Zusammenhang mit anderen Untersuchungen über den Einfluß von Konservierungsmitteln auf Stoffwechselvorgänge des tierischen Organismus wichtig, auch die Beeinflussung der hormonalen Sexualfunktionen durch Konservierungsmittel zu studieren. In unseren Versuchen mußte dabei auch klargestellt werden, ob eine eventuelle Beeinflussung primär durch eine direkte Schädigung des hormonalen Systems, also spezifisch oder nur sekundär durch eine Allgemeinschädigung des Gesamtorganismus bedingt ist. Für den Fall einer solchen spezifischen Wirkung galt es die Frage zu klären, ob diese ihre Ursache in einem peripheren oder in einem zentralen Eingreifen der betreffenden Konservierungsmittel in den normalen Funktionsablauf hat, d. h. ob eine Hemmung der Hormonproduktion in dem die Ovarialfunktion steuernden Hypophysenvorderlappen oder in den Ovarien selbst oder etwa eine direkte Störung am eigentlichen Erfolgsorgan, der Vagina, vorliegt. Zu diesem Zweck wurde in einer Reihe von Versuchen auch die Einwirkung von Konservierungsmitteln auf die künstliche Brunst kastrierter Ratten geprüft.

Folgende bei der Konservierung am meisten zur Anwendung kommenden und besonders auch von Lenzner heftig angegriffenen Stoffe wurden untersucht: Borsäure, Benzoesäure, schweflige Säure, Natriumnitrit, Kupferchlorid und Hexamethylentetramin.

Methodik.

Zur Prüfung dieser Fragen wurde die Scheidenabstrichmethode nach Allen-Doisy an geschlechtsreifen weiblichen Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 130—160 g benutzt. In einer Vorperiode wurde zunächst eine größere Anzahl von Tieren zur Kontrolle des jeweiligen oestrischen Cyclus täglich einmal abgestrichen. Nur diejenigen Tiere wurden in den endgültigen Versuch genommen, bei denen das Intervall, gerechnet vom auf den ersten Tag einer Vollbrunst folgenden Tag bis zum ersten Tag der nächsten Vollbrunst, während einer 15tägigen Kontrolle zwischen 4 und 6 Tagen betrug. Bei der Beurteilung der Brunststadien wurde nach dem von Zondek[15] angegebenen Schema verfahren. Als Vollbrunst wurde ein Stadium, in dem außer einigen wenigen Epithelien nur verhornte Schollen im Ausstrich vorhanden waren, betrachtet. Die Abstriche wurden täglich möglichst zur selben Zeit mit einer Platinöse vorgenommen. Die Präparate wurden in der

[15] Zondek, B.: Hormone des Ovariums und Hypophysenvorderlappens. Verlag Jul. Springer, Wien 1935.

Flamme fixiert und mit 1%iger Methylenblaulösung gefärbt. Als sichere Brunsthemmung wurde auf Grund der Erfahrungen von Lendle[16] ein Intervall von mindestens 10 Tagen gewertet.

Die einzelnen Konservierungsmittel wurden den Ratten, die in Gruppen zu je 5 Tieren mit möglichst gleichem Gewicht aufgeteilt wurden, täglich zur Hälfte in Milch, zur anderen Hälfte in Milch zusammen mit 30 g aufgeweichtem Brot für je 5 Tiere gegeben. Es wurde hierbei auf das wenig physiologische Vorgehen einer täglichen Zuführung mit der Sonde bewußt verzichtet, weil einmal allein schon dieser Eingriff, täglich über längere Zeit hin durchgeführt, nicht ohne Einfluß auf das Allgemeinbefinden bleiben kann, andererseits die betreffenden Stoffe dann in zu hohen Konzentrationen und ohne begleitende Nahrungsstoffe hätten zugeführt werden müssen, womit dann wahrscheinlich eine toxische „Stoßwirkung" erzielt worden wäre. Es wurde also zugunsten einer mehr physiologischen Aufnahme auf eine absolut genaue Kontrolle der aufgenommenen Menge verzichtet. Je 5 Tiere erhielten täglich die entsprechende Menge Konservierungsmittel in 10 ccm Wasser gelöst zuzüglich 90 ccm frischer Milch; 50 ccm davon wurden zum Saufen in einer Trinkkumme, die übrigen 50 ccm zusammen mit 30 g Brot zu fressen gegeben. Es wurde hierbei vorausgesetzt, daß je 5 ungefähr gleich schwere und in gleich gutem Allgemeinzustand befindliche Tiere annähernd die gleiche Menge Milch und Brot zu sich nehmen. Zusätzlich wurde täglich eine ausreichende Menge Körnermischfutter verfüttert. Zur Beurteilung des Allgemeinzustandes wurde das Aussehen des Felles und eine wöchentliche Gewichtskontrolle herangezogen; Gewichtsverluste unter 5% wurden als im Bereich der normalen Schwankung liegend betrachtet. In einer weiteren Versuchsreihe wurde Borsäure in 2- und 3%iger Lösung subcutan injiziert.

Bei den zur Untersuchung der Beeinflussung der künstlichen Brunst zur Verwendung kommenden Ratten wurden, nachdem die Tiere zuvor subcutan mit 0,3 g/kg Avertin einer 2,5%igen Lösung narkotisiert waren, die Ovarien mit einem Teil des angrenzenden Uterushorns durch je einen Paravertebralschnitt entfernt. Nach 6 Wochen wurden die Tiere, nachdem sie vorher während der letzten 14 Tage täglich abgestrichen worden und als sicher brunstfrei bestätigt waren, in den Versuch genommen. Anschließend wurden dann zunächst die Hormondosen ermittelt, die in drei Fraktionen mit vierstündigen Abständen an einem Tage injiziert bis zum dritten oder vierten Tage eine sichere Vollbrunst hervorriefen.

I. Borsäure.

Die schwach saure Borsäure ist zur Lebensmittelkonservierung in Konzentrationen bis zu 0,5% für Kaviar, 0,9% für Krabben und 1,5% für Eigelb zugelassen.

Es muß hier vorausschickend darauf hingewiesen werden, daß, wenn in der Lebensmittelindustrie z. T. höhere als bei einem Teil dieser vorliegenden Borsäureuntersuchungen zur Anwendung kommenden Konzentrationen Verwendung finden, diese sich im allgemeinen nur auf einen kleinen — dann auch noch keineswegs regelmäßigen — Bestandteil der täglichen Nahrung beziehen, während sich bei den vorliegenden Untersuchungen der Borsäuregehalt stets auf die nahezu gesamte täglich aufgenommene Nahrung bezog.

[16] Lendle, L.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **159**, 469 (1931).

In einer ersten Versuchsreihe wurde täglich zunächst 10 Tage lang eine 0,4%ige, dann weiterhin eine 0,5%ige Borsäurekonzentration mit dem Futter verabreicht. Der Zustand des Felles und die Gewichtskontrolle zeigten während der ganzen Zeit der Borsäureverfütterung keine Verschlechterung, im Gegenteil hatten sämtliche Tiere eine z. T. beträchtliche Gewichtszunahme zu verzeichnen. Während unter der Verfütterung von 0,4% Borsäure innerhalb von 10 Tagen kein sicherer Einfluß auf den Brunstablauf nachzuweisen war, kam es unter 0,5% bei allen Tieren zu deutlichen Brunsthemmungen mit Intervallen von mindestens 12 Tagen (Abb. 1). Diese Hemmungen traten bei fast allen Tieren bereits innerhalb der ersten 3—4 Tage nach Beginn der Verfütterung auf. In einer zusätzlichen Versuchsreihe wurden 35 Tage lang 0,3% Borsäure zum Futter gegeben. Diese Konzentration wurde ohne jeden Einfluß auf Allgemeinzustand oder Brunstablauf vertragen. Nach 30tägiger Fütterung wurden die Tiere, die 0,4 und 0,5% erhalten hatten, getötet, und die Ovarien und Vaginen histologisch untersucht*. Die Ovarien zeigten neben ruhenden vereinzelt wachsende Follikel und zahlreiche Corpora lutea, die als Zeichen dafür, daß sie nicht mehr ganz jung waren, bereits vaskularisiert waren; es handelte sich hier also um einen typischen Dioestrus. Die Vaginen enthielten ein- bis mehrschichtiges Epithel, das an der Oberfläche teils vollständig oder teilweise mit einschichtigem Schleimepithel überdeckt war, teils frei von Schleimepithel, statt dessen aber abgeplattet, wenn auch nicht verhornt war. Bei einigen Präparaten fanden sich im Lumen zahlreiche abgestoßene, aber noch nicht verhornte Epithelien. Die Vaginen entsprachen in ihrem Aufbau also entweder dem Dioestrus oder dem beginnenden Prooestrus. Pathologisch-anatomische Veränderungen, die einen Anhaltspunkt für die Ursache der Brunsthemmung gegeben hätten, wurden nicht gefunden.

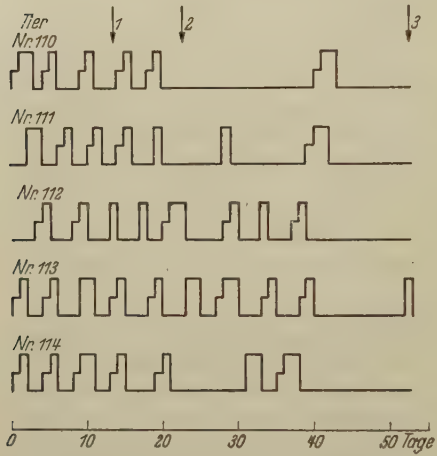


Abb. 1. Borsäure per os. Von 1 ab täglich 0,4%, ab 2 0,5%, bei 3 wurden die Tiere getötet und Vaginen sowie Ovarien zur histologischen Untersuchung entnommen.
Bei der Anlage der Kurven wurde so verfahren, daß die jeweilige Nullinie beim Auftreten einer Vorbrunst bis zu halber, und beim Auftreten einer Vollbrunst bis zu ganzer Höhe für die Dauer der betr. Vor- bzw. Vollbrunst hinaufgezogen wurde. Die Dauer der einzelnen Brunststadien sowie der Brunstintervalle wird auf der Abscisse abgelesen.

* Die Durchsicht der histologischen Präparate hatte freundlicherweise Herr Dr. Kurt Hollstein, Assistent der Universitäts-Frauenklinik, übernommen.

Zur Frage, ob die hier gefundenen Hemmungen reversibel sind, wurde eine weitere Gruppe von Tieren ebenfalls mit einem 0,5%igen Borsäurezusatz ernährt. Die Gewichtskontrolle zeigte auch hier bei allen Tieren eine konstante Gewichtszunahme bis zu 57%. Auch in dieser Versuchsreihe traten bei 4 Tieren Hemmungen von mindestens 11 Tagen, bei dem fünften Tier bis zu 8 Tagen auf. Nach 37tägiger Fütterung wurden die Tiere mit Milch, Brot und Körnermischfutter, aber ohne Borsäurezusatz, weitergefüttert. Innerhalb von 8 Tagen stellte sich wieder der normale Cyclus mit Intervallen von 4—5 Tagen her.

Da bei der Borsäure ein Einfluß auf den Brunstablauf auf dem Umwege über eine latente Schleimhautschädigung im Magen-Darmtraktus nicht ganz auszuschließen war, wurde einer größeren Reihe von Tieren Borsäure in 2- bzw. 3%iger Lösung subcutan täglich mehrere Wochen lang verabreicht. Die injizierten Flüssigkeitsmengen waren z. T. verhältnismäßig groß, jedoch wurde ein Einfluß auf den Brunstcyclus, der allein durch die parenterale Zufuhr solch großer Flüssigkeitsmengen hätte bedingt sein können, durch Kontrollen mit entsprechenden Mengen physiologischer Kochsalzlösung ausgeschlossen. Die Ausscheidungsgröße und Schnelligkeit der Borsäure verläuft nach Rost[17] unabhängig von der Menge der aufgenommenen Flüssigkeit und von der Harnabsonderung, sie ist also ebenso wie Harnsäure, Phosphate und andere Stoffe nicht ausspülbar.

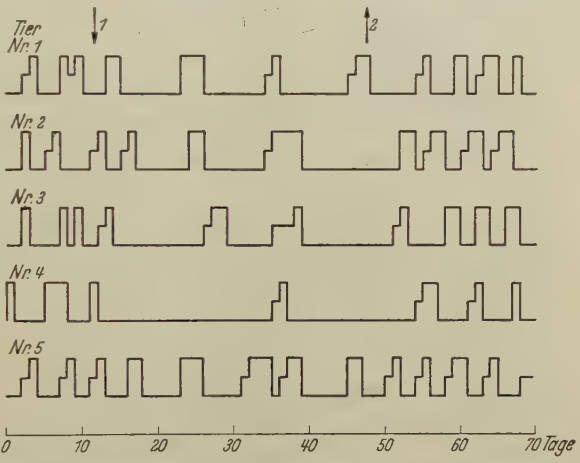


Abb. 2. Borsäure per os. Von 1 ab täglich 0,5 %, ab 2 Normalkost.

Zunächst wurden einer Gruppe von Tieren täglich über mehrere Wochen lang 0,2—0,5 g/kg in einer 2%igen Lösung subcutan injiziert. Bei diesen Tieren blieb die Brunst unbeeinflußt, Allgemeinschäden traten nicht auf, die Gewichtskurve verlief normal (Tab. 1).

Einer weiteren größeren Tierreihe (Tab. 2) wurden täglich über mehrere Wochen lang 0,5—1,0 g/kg in einer 3%igen Lösung injiziert. Die Tiere, die bis zu 0,6 g/kg erhielten, blieben ebenfalls sowohl in bezug auf die Brunst wie auch auf das Allgemeinbefinden unbeeinflußt. Ein Tier, das 0,75 g/kg erhielt und alle Tiere, die 1,0 g/kg erhielten, zeigten dagegen ein ganz eigenartiges Verhalten. Es trat entweder eine wochenlange Brunsthemmung mit dem Bilde des Dioestrus auf, wobei

Tabelle 1. Borsäurelösung 2%ig s. c.

Tier Nr.	Borsäuremenge kg	Injektionsdauer Tage	Gewichtszustand in g zu Beginn	Gewichtszustand in g am Ende	%	Brunstabstände in Tagen vor der Zufuhr	Brunstabstände in Tagen während der Zufuhr
36	0,2	15	162	190	+ 17	3—4	3—4
40	0,25	32	150	198	+ 32	3—4	3
49	0,3	32	157	198	+ 26	3—4	3—4
52	0,4	32	140	200	+ 42	4—7	4—5
53	0,5	32	153	185	+ 21	3—5	3—4

Tabelle 2. Borsäurelösung 3%ig s. c.

Tier Nr.	Borsäuremenge kg	Injektionsdauer Tage	Gewichtszustand in g zu Beginn	Gewichtszustand in g am Ende	%	Brunstabstände in Tagen vor der Zufuhr	Brunstabstände in Tagen während der Zufuhr	Brunstabstände in Tagen nach der Zufuhr
41	0,5	16	162	200	+ 19	4—5	4—5	—
43	0,6	25	120	176	+ 32	4—5	4—5	—
46	0,75	25	137	124	— 10	4—6	H. 15 Tage, dann D. B.	—
47	0,75	16	160	198	+ 19	4—6	4—6	—
21	1,0	11	145	185	+ 21	4	H. 8 Tage	—
37	1,0	17	162	187	+ 13	4—5	ab 3. Tag D. B.	—
42	1,0	11	148	153	+ 3	4—5	ab 4. Tag D. B.	—
54	1,0	25	142	153	+ 7	4—5	H. 12 Tage, dann D. B.	—
40	1,0	12	192	200	+ 4	4	H. 10 Tage	—
85	1,0	15	200	205	+ 2	4—5	ab 6. Tag D. B.	—
105	1,0	35	202	223	+ 9	4	H. bis 25 Tage, vorübergehend D. B.	4—5
118	1,0	35	140	160	+ 12	4—6	H. 44 Tage	4—6
132	1,0	11	150	185	+ 19	4—6	H. 21 Tage, vorübergehend D. B.	3—6
145	1,0	16	160	181	+ 11	4—7	H. 30 Tage, vorübergehend D. B.	4—6
147	1,0	18	182	200	+ 9	4—6	ab 9. Tag D. B.	—
148	1,0	16	190	203	+ 6	4—6	ab 8. Tag D. B.	4—5

H. = Brunsthemmung, Fehlen von Vollbrunststadien. D. B. = unvollständige Dauerbrunst.

allerdings bemerkenswert war, daß für das Stadium des Dioestrus bei einzelnen Tieren in allen Abstrichen auffallend viel Schollen vorhanden waren, oder es trat innerhalb von 3—9 Tagen ein Stadium auf, während dem sowohl große Mengen von Epithelien wie auch Schollen, dagegen fast niemals Leukocyten vorhanden waren; es kam aber in keinem Fall zu einem reinen Schollenstadium, so daß der Eindruck entstand, daß es sich hier um eine unvollständige Dauerbrunst handelte.

In einigen Fällen wiederum bestand zunächst das oben geschilderte verhältnismäßig schollenreiche Dioestrusstadium, welches dann früher oder später in eine sogenannte unvollständige Dauerbrunst überging, Ein Teil der Tiere mit der unvollständigen Dauerbrunst wurde, nachdem diese ungefähr 10—20 Tage lang bestanden hatte, getötet und die Vagina

und die Ovarien histologisch untersucht. In den Ovarien fanden sich zahlreiche junge Corpora lutea und vereinzelt reife Follikel, die Vaginen zeigten typische Verhornung mit Abstoßung von Schollen; es bestand also histologisch das eindeutige Bild einer Dauerbrunst. Anzeichen einer ovariellen Organschädigung, wie z. B. bei der Röntgenschädigung, bei der es trotz weitgehender anatomischer Zerstörung der Ovarien u. U. ebenfalls zu einer Dauerbrunst kommt, waren nicht nachzuweisen. In einem Fall (Nr. 37) fand sich in einem Ovarium ein Blutpunkt. Diese sogenannten Blutpunkte gelten als eine nahezu spezifische Reaktion auf HVL.-Hormon. Wieweit in diesem Fall dem Blutpunkt eine Beziehung zum Wirkungsmechanismus der Konservierungsmittel auf den Sexualcyclus zuzuschreiben ist, soll dahingestellt bleiben, da es bei Ratten u. U. auch ohne äußerlich erkennbaren Grund zum spontanen Auftreten von Blutpunkten kommt. Die nicht getöteten Tiere wurden auf die Möglichkeit einer Reversibilität sowohl des schollenreichen Dioestrus als auch des unvollständigen Daueroestrus hin weiter kontrolliert. Es zeigte sich, daß diese Veränderungen in allen Fällen, wenn z. T. auch erst nach 2—3 Wochen, reversibel waren.

II. Benzoesäure.

Die Benzoesäure ist bis zu 0,2 % für Margarine, 0,25 % für Mayonnaise und 1,0 % für Eigelb und Speiseessig zugelassen.

In einer ersten Versuchsreihe wurden täglich zunächst 16 Tage lang 0,5 % (mengenmäßig sind dies z. B. ungefähr 0,1 g pro Tier), dann 15 Tage lang 0,75 % und schließlich 22 Tage lang 1,2 % der Nahrung in der oben angegebenen Weise zugesetzt. Da die Benzoesäure schlecht wasserlöslich ist, wurde zur Erreichung einer besseren Löslichkeit stets die gleiche Menge Natriumbikarbonat hinzugesetzt.

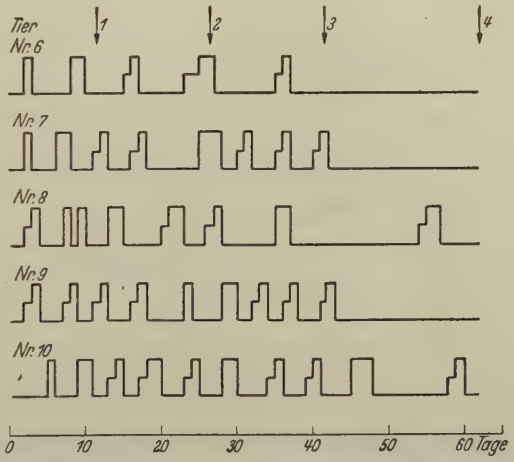


Abb. 3. Benzoesäure per os. Von 1 ab täglich 0,5 %, ab 2 0,75 %, ab 3 1,2 %, bei 4 wurden die Tiere getötet und Vaginen sowie Ovarien zur histologischen Untersuchung entnommen.

Der Allgemeinzustand blieb während der Verfütterung bei allen Tieren gut, sämtliche Tiere nahmen zwischen 24 und 43 g zu. Die Verabreichung von 0,5 % blieb bei allen Tieren ohne erkennbaren Einfluß auf den Brunstablauf, 0,75 % riefen bei zwei Tieren eine mäßige Hemmung bis zu 10 Tagen hervor, während 1,2 % bei allen Tieren eine ausge-

sprochene Hemmung zwischen 14 und 25 Tagen zur Folge hatten. Anschließend wurde diese Gruppe von Tieren getötet und die Vaginen und Ovarien zur histologischen Untersuchung entnommen. Diese zeigte das gleiche Bild wie bei den mit Borsäure gefütterten Tieren, nämlich bei den Ovarien den typischen Aufbau des Dioestrus, bei den Vaginen teils ebenfalls Dioestrus, teils beginnenden Prooestrus. Also auch hier keine pathologisch-anatomischen Veränderungen.

In gleicher Weise wie bei der Borsäure wurde auch bei der Benzoesäure an einer Reihe von Tieren die Frage der Reversibilität dieser durch Verfütterung mit Benzoesäurezusatz hervorgerufenen Brunsthemmungen untersucht. Hierbei wurden zunächst 20 Tage lang 1,0% und anschließend 17 Tage lang 0,9% Benzoesäure der Nahrung zugesetzt. Es kam in allen

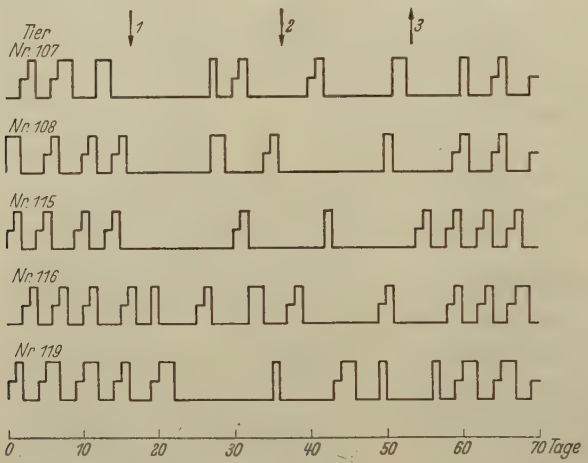


Abb. 4. Benzoesäure per os. Von 1 ab täglich 1,0%, ab 2 0,9%, ab 3 Normalkost.

Fällen während der Verfütterung mit 1,0% Zusatz, in 3 Fällen während der Verfütterung mit 0,9% zu Brunsthemmungen von 10—16 Tagen. Nach dem Absetzen der Benzoesäure stellte sich bei allen Tieren innerhalb von wenigen Tagen der vorherige normale Brunstrhythmus wieder vollständig her.

III. Hexamethylentetramin, schweflige Säure, Natriumnitrit, Kupferchlorid.

Das Hexamethylentetramin ist bis zu 0,1% zur Konservierung von Fischkonserven, die schweflige Säure bis zu 0,04% für Graupen und Gerstengrütze, bis zu 0,02% für Müllereierzeugnisse und bis zu 0,125% für Dörrobst und Speisegelatine, die Nikritpökelsalze als Natriumnitrit bis zu etwa 0,2%, die Kupfersalze bis zu 0,01% Kupfer für Gemüsekonserven zugelassen.

Vom Hexamethylentetramin und der schwefligen Säure — letztere in Form von Natriumsulfit — wurden zunächst 15 Tage lang 0,1 %, dann weiterhin 15 Tage lang 0,2 % und anschließend 19 Tage lang 0,4 % der Nahrung zugesetzt. Ein Einfluß auf den Allgemeinzustand der Tiere und insbesondere auf den Brunstablauf wurde, trotzdem also das zwei- bis vierfache der gesetzlich zur Konservierung prozentual zugelassenen Konzentration der täglichen Nahrung zugesetzt wurde, nicht beobachtet.

Tabelle 3. Hexamethylentetramin.

Tier Nr.	Dosierung: Konzentration %	Dosierung: Tage	Gewichtszustand in g: zu Beginn	Gewichtszustand in g: am Ende	%	Brunstabstände in Tagen: vor der Zufuhr	Brunstabstände in Tagen: während der Zufuhr
11	0,1	15	134	174	+ 29	4—6	4—9
12	0,2	15	156	180	+ 15	4—6	4—9
13	0,4	19	169	205	+ 21	4—5	4—6
14			171	192	+ 12	4—5	4—6
15			156	200	+ 28	5—6	5—8

Tabelle 4. Natriumsulfit.

Tier Nr.	Dosierung: Konzentration %	Dosierung: Tage	Gewichtszustand in g: zu Beginn	Gewichtszustand in g: am Ende	%	Brunstabstände in Tagen: vor der Zufuhr	Brunstabstände in Tagen: während der Zufuhr
16	0,4	15	162	205	+ 26	4—5	5—8
17	0,8	15	169	213	+ 27	4—7	4—7
18	1,6	19	200	225	+ 11	4—6	4—9
19			200	245	+ 22	4—6	4—9
20			182	224	+ 23	4—6	5—7

Natriumnitrit wurde 17 Tage lang in einer Konzentration von 0,3% und anschließend 18 Tage lang von 0,6 % zugeführt. Der Allgemeinzustand wie auch der Ablauf des Brunstcyclus blieben unbeeinflußt.

Kupfer wurde ebenfalls als Salz in Form von Kupferchlorid gegeben. 16 Tage lang wurden täglich 0,01 % und weitere 18 Tage lang 0,02 % Kupfer dem Futter zugefügt. Auch hier kam es in keinem Fall zu einer Brunsthemmung.

Tabelle 5. Natriumnitrit.

Tier Nr.	Dosierung: Konzentration %	Dosierung: Tage	Gewichtszustand in g: zu Beginn	Gewichtszustand in g: am Ende	%	Brunstabstände in Tagen: vor der Zufuhr	Brunstabstände in Tagen: während der Zufuhr
22	0,3	17	184	215	+ 16	4—6	4—8
24	0,6	18	202	229	+ 13	4	4—5
25			174	193	+ 11	4—5	5—6
26			222	230	+ 4	4—5	4—5
27			170	180	+ 6	4—5	4—6

Tabelle 6. Kupferchlorid.

Tier Nr.	Dosierung: Konzentration %	Dosierung: Tage	Gewichtszustand in g: zu Beginn	Gewichtszustand in g: am Ende	%	Brunstabstände in Tagen: vor der Zufuhr	Brunstabstände in Tagen: während der Zufuhr
28	0,027	16	197	226	+ 13	4—6	4—7
29	0,027	16	228	250	+ 8	4—6	4—7
31	0,054	18	175	205	+ 17	4—6	5
33	0,054	18	177	203	+ 14	4—6	4—6
36	0,054	18	170	192	+ 12	4—5	4—9

IV. Der Einfluß oral verabreichter Borsäure auf die künstliche Brunst kastrierter weiblicher Ratten.

Wie schon einleitend angedeutet, sollte beim Auftreten einer spezifischen Hemmung der Versuch gemacht werden zu klären, ob hier eine Hemmung der Hormonproduktion in den Ovarien oder eine verminderte hormonale Ansprechbarkeit des eigentlichen Erfolgsorgans, der Vagina, vorliegt. Zu diesem Zweck wurden weibliche, nach der oben angegebenen Methode kastrierte Ratten mit einem Durchschnittsgewicht von 200—220 g zunächst auf die Hormonmenge, die mit Sicherheit eine künstliche Vollbrunst hervorrief, eingestellt. Die gesamte Hormonmenge wurde in drei Fraktionen mit vierstündlichen Abständen an einem Tage injiziert. Am darauffolgenden Tage wurden die Tiere zweimal, am übernächsten Tage dreimal abgestrichen, um möglichst jede auch nur kurzdauernde Brunstperiode erfassen zu können. Als Hormon kam wässeriges Perlatan der Firma Boehringer zur Verwendung, und zwar in einer Konzentration, die in 1 ccm 10 ME. bzw. ungefähr 2 RE. enthielt. Als sicher brunstwirksame Dosis ergaben sich in einer Reihe von Vorversuchen 0,32 ccm/100 g Tier.

Tabelle 7. Perlatanwirkung an normalernährten kastrierten weiblichen Ratten.

Hormondosis in ccm pro 100 g Tier	120	121	123	125	126	127	128	129
0,5	+	+			+	+		
0,4				+		+, (+)	+	+
0,32	(+), +	+	+	+	+	(+)	+, +	
0,27	(+)	−, ±	+	(+), +	(+)	−	+	(+)
0,23	±			(+)	±, (+)			−
0,2			−	−		−	+	−, (+)

(+) = Vorbrunst, + = Vollbrunst, ± = Nachbrunst, − = Zwischenbrunst.

Anschließend wurde dann unter Borsäureverfütterung bei denselben Tieren die sicher brunstwirksame Hormondosis mit der gleichen Versuchsanordnung erneut bestimmt. Die Borsäure wurde hier ebenso

wie in den bereits geschilderten Fütterungsversuchen in 0,5 %iger Lösung und entsprechend gleich großer Menge Borsäure pro kg Tier in Milch davon zur Hälfte zusammen mit Brot 20 Tage lang verfüttert. Wie aus Tabelle 8 hervorgeht, war die hormonale Ansprechbarkeit der Vagina unter Borsäureverfütterung nicht verändert.

Tabelle 8. Perlatanwirkung an mit Borsäure ernährten kastrierten weiblichen Ratten.

Hormondosis in ccm pro 100 g Tier	120	121	123	125	126	127	128	129
0,4	+, (+)	+	+, +	+	+, +	+, +	+, +	+
0,32	+	+, +	+	+, +	+	(+), +	+, +	+
0,27	+	±	+					+
0,23				(+)	(+)			
0,2								(+)

Ergebnisse.

Für das Hexamethylentetramin und die schweflige Säure hat sich bei oraler Zufuhr in Mengen von 0,14 g/kg täglich 15 Tage lang, 0,28 g/kg anschließend ebenfalls 15 Tage lang und 0,56 g/kg 19 Tage lang in 0,1 %- bzw. 0,2 %- bzw. 0,4 %iger Lösung kein Einfluß auf den Allgemeinzustand oder auf den Verlauf des Brunstrhythmus nachweisen lassen. Da das Hexamethylentetramin bis zu 0,1 %, die schweflige Säure bis zu 0,125 % als Konservierungsmittel bestimmter Nahrungsstoffe zugelassen sind, würden die verabreichten Mengen bei einer schätzungsweisen maximalen Aufnahme von etwa 1 kg solcher mit Hexamethylentetramin oder schwefliger Säure konservierten Nahrungsmengen pro Tag für einen 70 kg schweren Menschen, etwa pro Tag eine Menge von 0,014 g/kg für das Hexamethylentetramin und von 0,019 g/kg für die schweflige Säure bedeuten. Vom Hexamethylentetramin hat also die zwanzig- bis vierzigfach größere und von der schwefligen Säure die fünfzehn- bis dreißigfach größere Dosis, als sie aus den zur chemischen Konservierung gesetzlich zugelassenen Konzentrationen als mögliche Aufnahme berechnet werden kann, über längere Zeit im Tierversuch zugeführt, weder einen Einfluß auf den Allgemeinzustand noch auf die hormonalen Sexualfunktionen ausgeübt.

Das Natriumnitrit hatte 17 Tage lang in einer Menge von 0,42 g/kg und anschließend 18 Tage lang in einer Menge von 0,84 g/kg in 0,2- bzw. 0,4 %iger Lösung per os zugeführt in keinerlei Hinsicht einen Einfluß, trotzdem hier im Verhältnis das zehn- bis zwanzigfache der aus der zugelassenen Konzentration als mögliche Aufnahme berechneten Menge verfüttert wurde.

Auch Kupfer und zwar 0,014 g/kg 16 Tage, und 0,028 g/kg anschließend 18 Tage lang täglich in 0,01- bzw. 0,02 %iger Lösung, zeigte

keinen hemmenden Einfluß auf den Ablauf des Brunstrhythmus oder auf den Allgemeinzustand. Im Verhältnis wurde auch hier das zehn- bis zwanzigfache der als Aufnahme möglichen Menge gegeben.

Bei diesen Berechnungen muß natürlich beachtet werden, daß schon die Annahme fehlgeht, daß etwa mit der täglichen Nahrung solche wie die angeführten „Mengen" aufgenommen würden, nur weil gewisse „Konzentrationen" für die Konservierung zugelassen sind. Es handelt sich doch bei den Konserven meist nur um Fisch-, Frucht- oder Eierkonserven, welche nur in kleinen Quanten als Vor- oder Zuspeisen gelegentlich Verwendung finden.

Es scheint hier auch von Interesse, die akute und chronische Toxizität dieser Stoffe zur Beurteilung heranzuziehen, soweit hierüber in der Literatur Angaben vorhanden sind. Im allgemeinen ist man darin allerdings weitgehend auf Analogieschlüsse aus Ergebnissen mit anderen Tierarten angewiesen. So vertragen bei einmaligen Gaben vom Hexamethylentetramin nach Nicolaier [17] Mäuse 0,5 g pro die per os, Kaninchen reagieren auf 10 g nur mit einer Nephritis, ebenso Hunde auf die an einem Tage verfütterte Menge von 15 g. Von der schwefligen Säure rufen nach Rost und Franz [18] 0,2 g/kg Kaninchen im Laufe von Tagen und Wochen heftige Entzündungserscheinungen an der Magenschleimhaut und vereinzelt Blutungen im Darmtraktus hervor, 0,25 bis 0,35 g/kg Kaninchen wirken innerhalb von Stunden tödlich. Natriumnitrit führt nach Harnack [19] bei der Katze in Mengen von 3—5 g pro Tier per os akut, in Mengen von 0,1—0,3 g täglich nach mehreren Tagen zum Tode. Kupfer [20] in Form von Kupfersulfat wirkt beim Hund bei verhindertem Erbrechen pro Tier mit 30 g akut und mit 0,6 g nach 8 Tagen tödlich.

Für die Tatsache der Unschädlichkeit z. T. so außerordentlich großer Gaben dieser Stoffe bei täglicher Verabreichung, sind wohl verschiedene Faktoren, insbesondere die Resorptions- und Eliminationsbedingungen verantwortlich zu machen.

So wird das Hexamethylentetramin zwar sehr schnell resorbiert, noch schneller aber eliminiert. Die Ausscheidung beginnt schon nach wenigen Minuten und ist bereits innerhalb von fünf Stunden im allgemeinen beendet. Auch die schweflige Säure wird im Darm schnell aufgenommen, aber schon beim Durchtritt durch die Darmwand und besonders im strömenden Blut fast augenblicklich zu Sulfat oxydiert, so daß im Harn meist nur noch das letztere nachweisbar ist. Mit der schwefligen Säure und ihren Salzen läßt sich eine chronische Vergiftung nicht

[17] Nicolaier: Zit. nach Trendelenburg, P. in Heffters Handbuch der experimentellen Pharmakologie I, 537. — [18] Rost, E., u. Fr. Franz: Arb. Reichsgesdh.amt, Berl. **21**, 312 (1904); **43**, 187 (1913). — [19] Harnack, E.: Arch. internat. Pharmakodynam. **12**, 185 (1903). — [20] Zit. nach F. Flury und F. Zernick in Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. IV, 7 B, 2, S. 1362.

erzielen. Ebenso wird vom Natriumnitrit ein großer Teil im Gewebe schnell zu Nitrat oxydiert. Bis zu 50% des aufgenommenen Natriumnitrits erscheint innerhalb kurzer Zeit als Nitrit oder Nitrat im Harn. Die Resorption des Kupfers dagegen ist sehr gering. Der größte Teil der dennoch resorbierten Kupfermenge wird relativ schnell wieder durch den Darm ausgeschieden. Eine chronische Kupfervergiftung konnte bisher nicht erwiesen werden.

Die Borsäure, die in 0,3%iger Konzentration 35 Tage lang schadlos vertragen wurde, hatte in 0,5%iger Konzentration, 30—40 Tage lang dem Futter beigemischt, eine deutliche Brunsthemmung zur Folge, ohne gleichzeitige Beeinflussung des Allgemeinzustandes gemessen am Verlauf der Gewichtskurve und am Zustand des Felles. In 3%iger Lösung subcutan verabreicht, rief die Borsäure bei nicht beeinträchtigtem Allgemeinzustand nach wenigen Tagen eine Brunsthemmung oder eine unvollständige Dauerbrunst oder zunächst eine Brunsthemmung mit anschließendem Übergang in eine unvollständige Dauerbrunst hervor.

Übertragen auf den Menschen entspricht diese verfütterte Borsäuremenge etwa der dreifachen, die injizierte etwa der fünffachen Menge, welche maximal, nach der obigen Berechnung aus der zur Konservierung zugelassenen Konzentration, mit der Nahrung aufgenommen werden könnte. Die Borsäure wird rasch und vollständig resorbiert und vorwiegend im Harn ausgeschieden. Die Ausscheidung geht langsam vor sich, so daß bei wiederholten Dosen eventuell mit Anhäufung im Körper und weiterhin mit kumulativen Wirkungen zu rechnen ist. Die akut letale Dosis liegt nach Neumann[21] für Hunde und Kaninchen ungefähr bei 4—5 g/kg, die chronisch letale Dosis nach Rost[22] ungefähr bei 0,5 g/kg für Hunde, wobei meist schwere Magen-Darmveränderungen als Todesursachen verantwortlich zu machen sind. In unseren Versuchen dagegen vertrugen Ratten, ohne Magen-Darmveränderungen und offensichtlich ohne Störung des Allgemeinzustandes, über Wochen schadlos 0,7 g/kg. Dies scheint dafür zu sprechen, daß sich Ratten zumindest einem schädigenden Einfluß auf den Verdauungstraktus gegenüber weitgehend refraktär verhalten.

Die Benzoesäure hatte in 0,5%iger Konzentration keinen Einfluß, in 0,75 und 0,9%iger bei einem Teil der Tiere und in 1,0%iger Konzentration bei allen Tieren, ohne Schädigung des Allgemeinzustandes, eine Brunsthemmung zur Folge. Im Verhältnis wurde von der Benzoesäure ungefähr das zehnfache der aus der gesetzlich erlaubten Konzentration zu berechnenden maximal aufnehmbaren Menge gegeben. Die Benzoesäure wird relativ schnell wieder ausgeschieden, doch ist die Schnelligkeit der Ausscheidung an das individuelle Paarungsvermögen mit Glyko-

[21] Neumann, J.: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkungen der Borsäure. Diss. Dorpat 1879. — [22] Rost, E.: Heffters Handbuch der experimentellen Pharmakologie III, 1, S. 440.

koll und an den jeweiligen Glykokollvorrat gebunden, so daß die Möglichkeit einer Anhäufung nicht immer auszuschließen ist. Die akut wie die chronisch letale Dosis der Benzoesäure liegt nach Rost[23] für Hunde und Kaninchen ungefähr zwischen 1,0 und 3,0 g kg. In den vorliegenden Untersuchungen riefen während mehrwöchiger Verfütterung 1,0—1,5 g/kg Benzoesäure bei Ratten weder Gewichtsverluste noch sonstige Zeichen einer Allgemeinschädigung hervor. Es scheinen also auch in bezug auf die Verträglichkeit der Benzoesäure bei Ratten andere Verhältnisse als bei anderen Säugern vorzuliegen.

Zu der Tatsache, daß sowohl bei der Borsäure wie auch bei der Benzoesäure die brunsthemmenden Dosen an Hand der Vergleichszahlen eigentlich schon im Bereich der toxischen Dosen liegen, ist erstens zu berücksichtigen, daß bei unseren Untersuchungen Ratten als Versuchstiere verwandt wurden, die sich bekanntlich verschiedenen anderen Stoffen und Giften gegenüber (z. B. Digitalis) besonders widerstandsfähig erweisen, zweitens, daß bei diesen Versuchen die Bor- und die Benzoesäure den Tieren nicht stoßartig einmal täglich in starker Konzentration zugeführt wurden, sondern von diesen im Verlauf von 24 Stunden entsprechend dem jeweiligen Freßbedürfnis mit der Nahrung allmählich aufgenommen wurden. Im übrigen beweist die vorausgehende Betrachtung des toxischen Verhaltens der Bor- und der Benzoesäure, daß die brunsthemmende Wirkung dieser beiden Konservierungsmittel allerdings in einem Dosierungsbereich eintritt, der dem toxischen Bereich sehr nahe liegt. Diese Feststellung ist noch einmal notwendig, weil möglicherweise gerade aus unseren Versuchsergebnissen der Fehlschluß gezogen werden könnte, daß diese Stoffe bei Verabreichung in „Konzentrationen", die als Zusätze zu bestimmten Nahrungsmitteln amtlich zugelassen sind, schon schädigend wirken.

Die Bor- und die Benzoesäurewirkung sind schnell *reversibel*. Dies spricht mehr für eine funktionelle und gegen eine organische Beeinflussung. So konnten auch weder an den Vaginen noch an den Ovarien im Anschluß an mehrwöchentliche tägliche Verfütterung oder Injektion von Bor- bzw. Benzoesäure organische Veränderungen nachgewiesen werden. Die Ansprechbarkeit der Vaginen kastrierter Ratten auf Follikelhormon unter gleichzeitiger Verfütterung von Borsäure war gegenüber nicht mit Borsäure gefütterten Tieren unverändert. Hiermit fällt die Vagina als Angriffspunkt für die Borsäurewirkung fort.

Diese Beobachtungen über eine Hemmung des Oestrus stimmen überein mit Erfahrungen von Buschke und Zondek[24] über eine reversible Hemmung der Brunstvorgänge durch Gaben von Thalliumacetat. Zondek berichtet, daß es in diesen Fällen gelang, durch Gaben von Follikulin oder Hypophysenvorderlappenhormon in normaler Weise Oestrus-

[23] Rost, Franz u. Weitzel: Arb. Reichsgesdh.amt, Berl. **45**, 425 (1913). — [24] Zondek, B.: l. c., S. 64f.

veränderungen am Vaginalepithel auszulösen. Es kann danach der Angriffspunkt dieser Hemmung nicht im Ovar oder am peripheren Erfolgsorgan gelegen sein.

P. Gley[25] zitiert dagegen Angaben von Schaefer, Fontes u. a., nach denen durch wiederholte Gaben von Aluminiumsalzen die Fruchtbarkeit von Mäusen vermindert werden kann unter Ausbildung einer Follikelatresie ohne gleichzeitige Allgemeinschäden. Diese Beobachtung würde auch in Übereinstimmung stehen mit der klinischen Beobachtung, daß bei chronischen Bleivergiftungen oft amenorrhoische Zustände auftreten. Gley selbst konnte allerdings weder mit Blei-, noch durch Aluminiumsalze oder Thalliumazetat eine Störung der Brunstvorgänge an Ratten beobachten. Die Ergebnisse meiner Versuchsreihe bestätigen aber für einen weiteren Stoff aus der Gruppe der Metallreihe, das Bor, eine solche Brunsthemmung in noch nicht allgemein toxischen Dosen.

Zusammenfassung.

1. Die Borsäure ruft in verhältnismäßig großen Dosen per os ohne gleichzeitige Allgemeinschädigung eine Brunsthemmung, subcutan entweder eine Brunsthemmung oder eine unvollständige Dauerbrunst oder zunächst Hemmung und anschließend eine unvollständige Dauerbrunst hervor. Der Wirkungsmechanismus dieser Hemmung verläuft nicht, wie es vielleicht naheliegend ist, über eine latente Schädigung des Verdauungstraktus, sondern wahrscheinlich über das hormonale System. Die Vagina als Angriffspunkt wurde an kastrierten Ratten ausgeschlossen.

2. Die Benzoesäure ruft ebenfalls in verhältnismäßig großen Dosen, ohne Störung des Allgemeinzustandes, eine eindeutige Brunsthemmung hervor.

3. Die Beeinflussung des Brunstablaufs sowohl durch die Borsäure wie durch die Benzoesäure ist reversibel, was gegen die Annahme einer organischen und für die einer funktionellen Störung spricht. Die Ovarien von während der Brunsthemmung oder der unvollständigen Dauerbrunst getöteten Tieren zeigten keine pathologischen Veränderungen.

4. Hexamethylentetramin, schweflige Säure, Natriumnitrit und Kupfer haben keinen Einfluß auf den Allgemeinzustand oder den Ablauf der Brunstreaktion wenn sie, in mindest 20—30fach größeren Mengen als sie aus den zur chemischen Konservierung gesetzlich zugelassenen Konzentrationen als mögliche Aufnahme berechnet werden können, täglich der Nahrung zugesetzt werden.

[25] Gley, P.: Arch. internat. Pharmacodynam. **38**, 84 (1930).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Kgl. Universität Padua.
Direktor: Prof. E. Meneghetti.

Die pharmakologische Wirkung neuer Alkaloide, die aus dem Erythrophleum Guineense und aus dem E. Couminga isoliert wurden.

Von

Dr. med. **Renato Santi.**

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 4. März 1939.)

I. Einleitung.

In dieser Arbeit wird die pharmakologische Wirkung verschiedener Alkaloide behandelt, die man aus der Rinde der Pflanzenart Erythrophleum erhält. Es ist dies ein wenig bekanntes Kapitel der Pharmakologie, auch aus dem Grunde, weil die chemischen Kenntnisse über diese Alkaloide bis vor einigen Jahren recht unzureichend waren.

Die Pflanzenart Erythrophleum gehört der Familie der Leguminosen an. Von den verschiedenen Unterarten werden bis jetzt zwei zur Gewinnung der Alkaloide benutzt. Die eine ist das Erythrophleum Guineense, das sich in den äquatorialen Wäldern Afrikas und vor allem an den westlichen Meeresküsten findet. Die andere ist das Erythrophleum Couminga, das aus Madagaskar und den Seychellen-Inseln stammt.

Im Jahre 1876 teilten Gallois und Hardy mit, daß sie aus der Rinde von Erythophleum Guineense ein Alkaloid isoliert hätten, das von ihnen Erythrophlein benannt wurde (1). Aus den Blättern und Früchten der Couminga isolierten dieselben Autoren ein Alkaloid, das sie als identisch mit dem Erythrophlein betrachteten.

Im Jahre 1896 stellte Harnack, der das von Merck dargestellte Erythrophlein chemisch untersucht hatte, unter anderem fest, daß es sich um ein amorphes Alkaloid handelt: Molekulargewicht 505, empirische Formel $C_{28}H_{45}NO_7$.

Die Arbeit Harnacks scheint in chemischer Hinsicht die wichtigste zu sein (2). Französische Verfasser, wie Laborde, wollten auch Kristallkörper gesehen haben, die sie jedoch nicht näher beschreiben (3). Es steht jedoch fest, daß das Erythrophlein und seine Salze, die von Merck und Schuchardt dargestellt worden waren, amorph sind.

In pharmakologischer Hinsicht stellten die beiden Verfasser, die als erste das Erythrophlein isolierten, die Herzwirkung und die hohe Giftigkeit fest; es war jedoch schon vorher bekannt, daß die obenerwähnten Pflanzen wirksame Bestandteile enthalten, weil die Eingeborenen sie als Pfeilgifte und in den Gottesurteilen benutzten. Von verschiedenen Verfassern wurde die digitalisähnliche Wirkung bestätigt (4) (5) (6) (7) (8).

Im Jahre 1888 bewies Lewin (9) die Digitaliswirkung am Herzen, wie auch die lokalanästhetische Wirkung. Jedenfalls riet er von seiner Anwendung als lokalanästhetisches Mittel wegen seiner starken Reizwirkung auf die Augenbindehaut ab.

Mit dem Erythrophlein beschäftigten sich in neuerer Zeit Polak und Terwen (10). Dem Verfasser war es nicht möglich, ihre Arbeiten direkt zu sehen. Aus Zusammenfassungen und Handbüchern (11) ersieht man, daß sie die Giftigkeit am Frosch bestimmt haben und daß sie nochmals die Digitaliseigenschaften hervorhoben. Die Giftigkeit am Frosch und die Digitaliswirkung am Herzen sind neuestens (1936) von A. Chen, K. Chen und Anderson bestätigt worden, die auch ein kristallines Sulfat des Erythrophleins erhalten haben (12).

Es ist auch wichtig, auf die Studien Arkövys (13) und Hesses (14) hinzuweisen. Diese Verfasser untersuchten pharmakologisch ein Alkaloid in Pulverform, das in der Zahnheilkunde als Anaestheticum unter dem Namen Nervocidin angewandt wurde.

Im Jahre 1901 hat Arkövy die Giftigkeit für den Frosch und das Kaninchen bewiesen und außerdem die ausgeprägte anästhetische Wirkung an der Cornea des Kaninchens gezeigt. Später hat Hesse, im Jahre 1927, die pharmakologische Wirkung des Nervocidins studiert. Er hat auch die Wirkung dieser Substanz mit der anderen, die aus dem Erythrophlein (Merck) stammt, verglichen und kam zu folgendem Schluß: „Eine Übereinstimmung in annähernd gleichen Konzentrationen zeigten: Die analgetische Wirkung am ganzen Tier, die digitalisähnlichen Herzeffekte, die Lokalanästhesie, Hämolyse, Löslichkeit der Base in Petroläther und annähernd auch die Elementaranalyse." Jedenfalls scheint er einen Unterschied gefunden zu haben, insofern als das Erythrophlein, im Gegensatz zum Nervocidin, keine diuretische und keine erregende Wirkung auf Eingeweide und Uterus am Kaninchen aufweise. Da jedoch pharmakologische Studien, die in diesem Institut durchgeführt und teils schon veröffentlicht wurden, bewiesen haben, daß auch das Erythrophlein die von Hesse nicht konstatierten Wirkungen besitzt, erscheint es richtig, auch den Vorbehalt Meyers, Gottliebs und Picks (15) („vielleicht ist mit Erythrophlein das als Nervocidin bezeichnete Alkaloid identisch") abzulehnen und das Nervocidin mit dem Erythrophlein zu identifizieren. Und deswegen sind in dieser Arbeit die von Hesse gebrachten Daten auf das Erythrophlein übertragen.

Zusammenfassend kann man behaupten, daß bis vor einer gewissen Zeit unsere Kenntnisse über die wirksamen Bestandteile des Erythrophleums sich nur auf das Alkaloid Erythrophlein erstreckten; dieses wird im allgemeinen als amorph betrachtet. Die wichtigsten chemischen Angaben verdanken wir Harnack und die pharmakologischen Hesse.

Unsere Kenntnisse haben sich in der letzten Zeit dank der Studien Dalmas (16) (17) (18) sehr bereichert, der sich mit dem chemischen Teil befaßte und den Untersuchungen, die in diesem Institut unternommen und ausgeführt worden sind; die letzteren befassen sich mit dem pharmakologischen Teil. Genauere chemische Angaben findet man in den schon veröffentlichten Studien Dalmas; hier soll nur erwähnt werden, daß Dalma bis jetzt folgende Alkaloide isoliert hat: Nor-Cassaidin, kristallin, $C_{23}H_{41}NO_5$, Cassaidin, kristallin, $C_{24}H_{43}NO_5$, Cassain, kristallin, $C_{24}H_{39}NO_4$, Homophlein, amorph, $C_{56}H_{90}N_2O_9$, Cumingin, kristallin, $C_{28}H_{45}NO_6$, Cumingain, amorph, $C_{32}H_{51}NO_8$. Was den pharmakologischen Teil betrifft, will Verfasser darauf hinweisen, daß die ersten, diese Alkaloide betreffenden Studien in diesem Institut unternommen wurden; es wurden nämlich sämtliche obenerwähnten Alkaloide mit Ausnahme des Cumingains und des Cassains untersucht. Die wichtigsten Daten sind schon in Zusammenfassungen veröffentlicht worden (19—27).

Im Mai 1937 studierte Beccari (28) die Wirkung der von Dalma erwähnten Alkaloide am Herzen in situ bei normaler Durchblutung und fand mit Hilfe der Methode der funktionellen Dissoziation zwischen Sinus und Nodalzentrum die typische Digitaliswirkung.

Im September 1937 faßte Meneghetti in einem Bericht über die Fortschritte der italienischen Pharmakologie an der „Società per il progresso delle scienze" die Ergebnisse der in diesem Institut von den verschiedenen Mitarbeitern angestellten

Studien zusammen und machte einige hypothetische Angaben, um die pharmakologische Wirkung auf Grund der chemischen Struktur zu studieren.

Im Jahre 1938 untersuchten Chen, Hargreaves und Winchester (29) (30) an der Katze und am Frosch die pharmakologische Wirkung der obenerwähnten Alkaloide (inbegriffen das Cumingain und das Azetylcassain, Azetylderivat des Cassains) und erhielten Resultate, die im Grunde mit unseren im Einklang waren.

II. Experimenteller Teil.

Sämtliche pharmakologischen Untersuchungen sind mit den obenerwähnten Alkaloiden durchgeführt worden, und zwar:

Nor-Cassaidin Hydrochl., Cassain Hydrochl., Homophlein Bisulfat, Erythrophlein Sulfat, Cumingin Hydrochl.

Es soll an dieser Stelle daran erinnert werden, daß man im Erythrophleinsulfat zwei Moleküle des Alkaloids vorfindet; deswegen hat es der Verfasser für richtig gehalten, bei dem Vergleich der pharmakologischen Wirkung der verschiedenen untersuchten Salze, sich auf die in g mol ausgedrückte Dosis zu beziehen. (In den vorhergehenden Noten bezog sich der Verfasser auf die Molekulargewichte der Salze; da aber im Falle des Erythrophleinsulfats (einwertige Base) in Wirklichkeit zwei Alkaloidwurzeln vorhanden sind, findet es der Verfasser für richtiger, sich auf das Molekulargewicht der einzelnen Alkaloide zu beziehen.]

Ich fasse in der folgenden Tabelle die D. l. m. für den Frosch (Lymphsack), für die weiße Mäus (subcutan), für das Kaninchen (subcutan, intravenös, per os) zusammen.

Kleinste, sicher tödliche Dosen in g mol pro kg.

Alkaloide	Frosch	Maus	Kaninchen		
	Bauchsack	subcutan	subcutan	intravenös	per os
Nor-Cassaidin	$54 \cdot 10^{-6}$	$109 \cdot 10^{-6}$	$15{,}3 \cdot 10^{-6}$	$54{,}0 \cdot 10^{-6}$	$328 \cdot 10^{-6}$
Cassain	$433 \cdot 10^{-6}$	$76 \cdot 10^{-6}$	$13.0 \cdot 10^{-6}$	$4{,}3 \cdot 10^{-6}$	$>260 \cdot 10^{-6}$
Erythrophlein	$18 \cdot 10^{-6}$	$18 \cdot 10^{-6}$	$1{,}4 \cdot 10^{-6}$	$1{,}1 \cdot 10^{-6}$	$13 \cdot 10^{-6}$
Homophlein	$15 \cdot 10^{-6}$	$15 \cdot 10^{-6}$	$2{,}6 \cdot 10^{-6}$	$1{,}7 \cdot 10^{-6}$	$26 \cdot 10^{-6}$
Cumingin	$4{,}1 \cdot 10^{-6}$	$9 \cdot 10^{-6}$	$0{,}9 \cdot 10^{-6}$	$0{,}4 \cdot 10^{-6}$	$55 \cdot 10^{-6}$

Man kann also behaupten, daß die Giftigkeit im allgemeinen fortschreitend in der folgenden Reihenfolge:

$$\text{Nor-Cassaidin} < \text{Cassain} < \text{Erythrophlein} < \text{Homophlein} < \text{Cumingin}$$

zunimmt.

Es macht das Cassain eine Ausnahme, das sich beim Frosch viel weniger aktiv als die anderen Alkaloide erweist, dann das Homophlein, das im Kaninchen weniger aktiv als das Erythrophlein und das Cumingin, das im Kaninchen per os weniger wirksam wie das Homophlein und das Erythrophlein ist.

Was die allgemeinen Symptomenkomplexe betrifft, kann man sagen, daß man beim Nor-Cassaidin, Erythrophlein, Homophlein und

Cumingin vorwiegend depressive Erscheinungen beobachtet, sowie ein Bild, das für alle Alkaloide eine merkliche Gleichförmigkeit aufweist, dagegen beim Cassain erhebliche Erregungszustände. Es muß aber hinzugefügt werden, daß auch beim Kaninchen die Alkaloide, die vorwiegend depressive Erscheinungen hervorrufen, häufigere und deutlichere kontraktive Erscheinungen tonisch-klonischen Charakters erzeugen. Die Atmung, die beim Kaninchen zuerst erregt ist, wird dann gedämpft, die zuerst langsamen und sehr starken Herzschläge werden später häufiger und schwächer.

Man muß noch bemerken, daß alle geprüften Alkaloide Entzündungsreaktion an der Stelle der subcutanen Einspritzung erregen: diese Reaktion ist im allgemeinen gering, mit Ausnahme des Erythrophleins, das eine intensive Hyperämie und Gewebssäfte zustandekommen läßt.

Mit der Verabreichung per os beobachtet man eine Erhöhung der durch die Darmwand gut sichtbaren Darmtätigkeit, die beim Cumingin eine auffallende Intensität erreicht, und auch eine starke Diarrhoe erzeugt.

Von Wichtigkeit ist der bemerkenswerte Unterschied zwischen der kleinsten letalen Dosis bei Zuführung per os und intravenös. Im Falle des Nor-Cassaidins ist die Dosis per os zirka 61 mal größer als die intravenöse, im Falle des Cassains 63 mal größer, beim Homophlein 15 mal größer, beim Erythrophlein zirka 12 mal, beim Cumingin zirka 135 mal größer.

Der Unterschied zwischen den beiden letalen Dosen, der speziell im Falle des Cumingins, des Cassains und des Nor-Cassaidins auffällt, kann von den Veränderungen der Substanz im Verdauungsapparat und von der langsamen und unvollständigen Absorption abhängig sein. Welcher Faktor wichtiger ist, kann augenblicklich noch nicht gesagt werden. Der Verfasser will nur hervorheben, daß gerade das Cumingin (das einen größeren Unterschied zwischen den beiden Dosen aufweist) eine sehr starke und andauernde Diarrhoe hervorruft, wenn dieses per os verabreicht wird.

Zum Schluß will Verfasser noch hinzufügen, daß die Digitalisglykoside eine starke Verminderung der Giftigkeit aufweisen, wenn sie per os zugeführt werden (31).

Es ist allgemein bekannt, daß, wenn man zu richtigen Schlüssen über einen etwaigen Speicherungsprozeß kommen will, genaue Angaben über die Ausscheidung nötig sind. Bis heute jedoch war es keinswegs möglich, die Anwesenheit der Alkaloide in Exkrementen zu beweisen. Jedenfalls scheint es, daß Anhäufungsvorgänge bestehen: spritzt man nämlich wiederholt eine Reihe von Dosen ein, die um vieles kleiner sind als die letale Dosis, so kommt es zum Tode des Tieres mit einer Gesamtdosis, die die kleinste letale Einzeldosis nur um weniges überschreitet. Einige Beispiele sollen angeführt werden.

Ein Kaninchen, Gewicht 1200 g, erhielt intravenös jeden Tag 0,5 mg Cassain pro kg (ein Viertel der kleinsten letalen Dosis, die 2 mg pro kg beträgt). Das Tier starb nach der siebenten Einspritzung, d. h. nach Aufnahme von 3,5 mg.

Diese Ergebnisse sind in gewisser Hinsicht von den Beobachtungen Chens, Hargreaves und Winchesters an der Katze bestätigt worden.

Die Wirkung der Erythrophleinalkaloide aufs isolierte Herz der Rana esculenta wurde mittels der Meneghettischen Perfusionskanüle (32) studiert. Die pharmakologische Substanz wurde in Göthlinscher Flüssigkeit gelöst. Ihre langsame Wirkung und die wahrscheinlichen Kumulationserscheinungen in Betracht ziehend, berechnete der Verfasser als kleinste aktive Dosis diejenige, die im Verlauf von etwa 30 Minuten sichtbare und charakteristische funktionelle Veränderungen hervorruft, und als kleinste paralysierend wirkende Dosis diejenige, die in obenerwähnter Zeit das vollkommene Stillstehen der Herzkammer herbeiführt. Natürlich können auch kleinere Konzentrationen als die obengenannten dieselben Erscheinungen hervorrufen, wenn die Perfusionszeit verlängert wird. Die angenommene Zeitfrist schien für diese Alkaloide die beste.

Auf diese Weise wurden folgende Daten gewonnen:

Alkaloide	Kleinste aktive Konzentration in g mol/Liter	Kleinste paralysierende Konzentration in g mol/Liter	Alkaloide	Kleinste aktive Konzentration in g mol/Liter	Kleinste paralysierende Konzentration in g mol/Liter
Nor-Cassaidin ..	$190 \cdot 10^{-7}$	$2180 \cdot 10^{-7}$	Homophlein	$17 \cdot 10^{-7}$	$88 \cdot 10^{-7}$
Cassain	$72 \cdot 10^{-7}$	$1085 \cdot 10^{-7}$	Cumingin ...	$3 \cdot 10^{-7}$	$37 \cdot 10^{-7}$
Erythrophlein ..	$18 \cdot 10^{-7}$	$90 \cdot 10^{-7}$			

Was die Wirkung betrifft, so ist diese grundsätzlich für alle geprüften Alkaloide gleich und typisch digitalisartig. Wie bei Digitalis kann nach einer Latenzphase eine chronotrop negative, dann eine inotrope Wirkung, zuerst positiv und dann negativ, und später ein tonischer Effekt zum

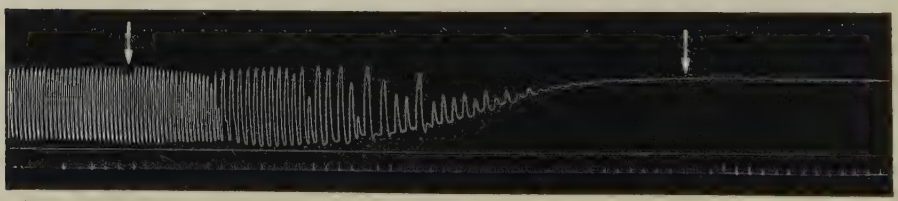


Abb. 1. Isoliertes Froschherz. Meneghettische Perfusionskanüle. Göthlinlösung. Beim ersten Zeichen: Cassain $21 \cdot 10^{-4}$ g mol/Liter. Beim zweiten Zeichen: Auswaschen. Zeitschreibung 6 Sekunden.

Vorschein kommen. Man erhält somit ein endgültiges Bild, das durch den Stillstand in der Kammer in Systole und des Vorhofes in Diastole ausgezeichnet ist. (Die Vorhöfe pulsieren noch längere Zeit nach dem Stillstand der Kammer.) Die Latenz und die Dauer der Erscheinung sind von der benutzten Konzentration abhängig (Abb. 1). Bei stärkerer Verdünnung kommt die inotrop positive Wirkung nicht zum Vorschein. Ersetzt man die

Perfusionsflüssigkeit, die die wirksame Substanz enthält, durch eine gewöhnliche Perfusionsflüssigkeit, so beobachtet man keine Reversionserscheinungen.

Erfolgt die Ersetzung noch vor dem Erscheinen des toxischen Bildes, ist der Verlauf derselbe, als ob die pharmakologische Substanz noch zirkulieren würde; nur wenn man einige Stunden lang die Spülflüssigkeit zirkulieren läßt, kann man sichtbare Erscheinungen von Giftbefreiung beobachten.

Das soeben Gesagte gilt für sämtliche Alkaloide, mit Ausnahme des Cumingins, das anscheinend keine evidente und schnelle chronotrope Wirkung hat.

Der Verfasser hat es als interessant betrachtet, den Einfluß des Calciums auf die Wirkung der beobachteten Alkaloide zu studieren. Prüft man am isolierten Froschherz eine calciumfreie Perfusionsflüssigkeit, die die Digitalisglykoside enthält, so beobachtet man keinen charakteristischen tonischen Stillstand. Fängt man aber an, die Perfusionsflüssigkeit auch ohne Digitalis aber mit Calcium zirkulieren zu lassen, so tritt sofort die obenerwähnte Erscheinung hervor [Literatur siehe bei Weese (33) und Lendle (11)].

Um das Verhalten der Alkaloide zu studieren, ist Verfasser in folgender Weise vorgegangen: Läßt man eine sicher paralysierend wirkende Alkaloidkonzentration in calciumfreier Ringerlösung auf ein wegen des Calciummangels hypodynamisches Herz wirken, so beobachtet man weder Verstärkung des Tonus, noch tonischen Stillstand. Läßt man aber Ringerlösung zirkulieren (ohne Alkaloid aber mit der normalen Menge des Calciums), so kommt sofort die digitalisartige Wirkung zum Vorschein.

Man kann also behaupten, daß in dieser Hinsicht die Erythrophleinalkaloide sich ebenso verhalten wie die Digitalisglykoside. Der Verfasser hat außerdem den Einfluß, den die pharmakologischen Substanzen, die auf die Nervenendigung des vegetativen Nervensystems wirken, auf die Erythrophleinalkaloide ausüben, untersucht. Man kann keine ersichtlichen Veränderungen an den von Atropin, Pilokarpin, Ergotamin und Adrenalin hervorgerufenen Erscheinungen beobachten, das entspricht grundsätzlich dem, was uns über die Wirkung der Digitalisglykoside auf das isolierte Froschherz bekannt ist. Man kann also daraus den logischen Schluß ziehen, daß diese Alkaloide vorwiegend auf die Muskelfasern des Herzens wirken.

Wirkung auf das isolierte Herz des Kaninchens. Bei diesen Untersuchungen bediente sich Verfasser des Apparates von Langendorff-Spadolini für das isolierte Säugetierherz (34) mit der Lockeschen Flüssigkeit für Säugetiere. Das Gewicht der Tiere betrug 1100– 1600 g.

Aus den schon im vorigen Kapitel erwähnten Gründen ist es schwer, mit Genauigkeit die Dosis festzustellen, die einen Vergleich der Wirkung der verschiedenen Alkaloide gestattet. Betrachtet man aber als kleinste aktive Dosis diejenige, welche in einem Zeitraum von zirka 60 Minuten

charakteristische Funktionsveränderungen hervorruft und als kleinste paralysierend wirkende Dosis diejenige, die innerhalb von 10 Minuten den vollkommenen Stillstand der Kammer in der Systole hervorruft, so erhält man folgende Daten:

Alkaloide	Kleinste aktive Konzentration in g mol/Liter	Kleinste paralysierende Konzentration in g mol/Liter	Alkaloide	Kleinste aktive Konzentration in g mol/Liter	Kleinste paralysierende Konzentration in g mol/Liter
Nor-Cassaidin ..	$1090 \cdot 10^{-9}$	$438 \cdot 10^{-8}$	Homophlein .	$176 \cdot 10^{-9}$	$88 \cdot 10^{-8}$
Cassain	$2170 \cdot 10^{-9}$	$2900 \cdot 10^{-8}$	Cumingin ...	$12 \cdot 10^{-9}$	$18 \cdot 10^{-8}$
Erythrophlein ..	$180 \cdot 10^{-9}$	$360 \cdot 10^{-8}$			

Mit allen diesen erhält man eine ausgesprochen digitalisartige Wirkung und zwar Verstärkung der Herzkontraktionen, sowohl in der Systole, wie auch in der Diastole. Der einzige Unterschied zwischen den Erythrophleinalkaloiden und den Digitalisglykosiden besteht darin, daß die Wirkung der ersteren, auch bei Anwendung kleiner Mengen sich bei der Diastole bemerkbar macht, während sie bei den zweiten nur bei der Systole bemerkbar ist. Was die chronotrope Wirkung betrifft, so wird manchmal die Zahl der Pulsationen größer, manchmal bleibt sie unverändert; jedenfalls ist die Arbeit des Herzens vergrößert, da doch gleichzeitig eine stark inotrop positive Wirkung besteht. Diese Steigerung der Pulsationsfrequenz, begleitet von einer Verstärkung der systolischen und diastolischen Größe, kommt auch in der ersten Periode der funktionellen Veränderungen vor, die von Digitalisglykosiden am isolierten Froschherzen hervorgerufen werden.

Bedient man sich höherer Konzentrationen, so hat man dieselben toxischen Erscheinungen, die wir bei Vergiftung mit Digitalisglykosiden beobachten; der Umfang der Kontraktionen wird kleiner, es stellen sich Veränderungen im Rhythmus ein, und zuletzt kommt es zum Stillstand des Ventrikels in Systole. Im allgemeinen sind die Erscheinungen irreversibel.

Aus verständlichen Gründen wurde die Wirkung dieser Alkaloide, kombiniert mit Atropin, Ergotamin und Adrenalin, am Kaninchenherzen untersucht, wobei die gleichen Ergebnisse wie oben erzielt wurden.

Experimente mit dem Läwen-Trendelenburgschen Präparat. Die geprüften Alkaloide haben eine gefäßverengernde Wirkung. Nur in schwächeren Konzentrationen tritt manchmal anfangs, aber nur vorübergehend, eine gefäßerweiternde Wirkung hervor. Die gefäßverengerndeWirkung macht sich nicht sofort bemerkbar; scheinbar existiert eine kurze Latenzperiode. Kommt es dann zur Gefäßverengerung, so bleibt diese lange bestehen. Durch Spülungen ist sie nur sehr schwach reversibel zu gestalten.

Um die Wirkungsintensität der verschiedenen Alkaloide zu vergleichen, kann man die Wirkung nach zirka 45 Minuten bei einer Konzentration von 1: 100 beobachten. Setzt man pro Minute die Tropfenzahl am Anfang

gleich 100, erhält man nach der obenerwähnten Zeit und bei den angegebenen Konzentrationen folgende Ergebnisse:

Alkaloid	Konzentration	Zahl der vorher abfließenden Tropfen	Zahl der nach 45 Min. abfließenden Tropfen
a	b	c	d
Nor-Cassaidin	1 : 1000	100	68
Cassain	1 : 1000	100	58
Erythrophlein	1 : 1000	100	21
Homophlein	1 : 1000	100	4,7
Cumingin	1 : 1000	100	1
Nor-Cassaidin	1 : 5000	100	40
Cassain	1 : 5000	100	44
Erythrophlein	1 : 5000	100	11
Homophlein	1 : 5000	100	33
Cumingin	1 : 5000	100	100
Nor-Cassaidin	1 : 20 000	100	73
Cassain	1 : 20 000	100	90
Erythrophlein	1 : 20 000	100	50
Homophlein	1 : 20 000	100	66
Cumingin	1 : 20 000	100	105

Bei Verwendung schwächerer Konzentrationen sind die Erscheinungen grundsätzlich analog.

Um einen Begriff der Wirkungsintensität dieser Alkaloide zu geben, zeichnen wir in der folgenden Abbildung auf der Abzissenachse die Zeit in Minuten, vom Augenblick an, in dem wir die pharmakologische Substanz einführen und auf der Ordinatenachse die Zahl der Tropfen, die jede Minute abfließen, so erhalten wir im Falle des Nor-Cassaidins bei einer Konzentration von 1 : 500 folgendes Bild:

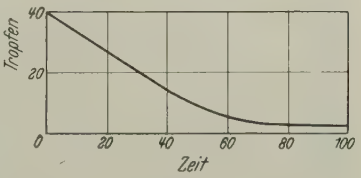


Abb. 2.

Als die kleinsten Konzentrationen, bei denen es noch möglich ist, eine schwache aber sichere gefäßverengernde Wirkung festzustellen, können die zwischen 1:2000 und 1:50000 betrachtet werden. Bedenkt man, daß die Wirkung einiger dieser Alkaloide am isolierten Froschherzen auch in Konzentrationen von 1:5000000 noch hervortritt, so wird ersichtlich, daß die Wirkung viel stärker für das Herz als für die Gefäße ist. Es ist bekannt, daß bei den Digitalisglykosiden das Verhältnis zwischen kleinsten am Herzen und kleinsten an den Gefäßen wirksamen Konzentrationen zwischen 0,67 und 2 schwankt, d. h. daß die Sensibilität der Gefäße des Frosches ungefähr der Sensibilität des Herzens angenähert ist.

Der Verfasser studierte in Analogie mit den vorhergehenden Untersuchungen eventuell eintretende antagonistische Wirkungen und fand, daß das Ergotamin die von diesen Alkaloiden hervorgerufenen Erscheinungen nicht verändert. Wie uns aus den Studien von Dale und Laidlow (35) und Gunn (36) bekannt ist, fehlt auch bei den Digitalisglykosiden jede antagonistische Erscheinung gegenüber dem Ergotamin. Das hängt anscheinend von einer Wirkung auf die glatte Muskelfaser ab.

Experimente an den Ohrgefäßen des Kaninchens. Die gefäßverengernde Wirkung ist in diesem Falle sehr mild; manchmal fehlt sie überhaupt, auch bei sehr hohen Konzentrationen. Auf die gefäßverengernde folgt manchmal eine schwache gefäßerweiternde Wirkung.

Abb. 3. Kaninchen, 1500 g. Obere Kurve: Atmungsregistrierung mit Trachealkanüle. Untere Kurve: Karotidendruck mit Quecksilbermanometer. Beim ersten Zeichen: Cassain 21. 10. 5 g mol/Liter injiziert. Einspritzungsgeschwindigkeit 2 ccm pro Minute und pro kg. Beim zweiten Zeichen: Ende der Injektion. Gesamtes eingespritztes Cassain 0.17 mg pro kg. Zeitschreibung 6 Sekunden.

Es ist wichtig, hervorzuheben, daß auch die Digitalisglykoside eine geringe gefäßverengernde Wirkung auf die Ohrgefäße des Kaninchens sowie auf die Gefäße des Frosches haben.

Der Blutdruck wurde in üblicher Weise an der Carotis des Kaninchens gemessen.

Injektion in die Jugularvene. Sämtliche Alkaloide wiesen eine gleichartige Wirkung auf, die kurz so zusammengefaßt werden kann: Spritzt man sehr langsam ein, so stellt sich das erste Stadium ein, in dem die Herztätigkeit verstärkt (größere Energie der Systole und vergrößerte Diastole) und verlangsamt ist. In diesem Stadium steigt der arterielle Blutdruck überhaupt nicht oder nur selten und nur wenig. In einem zweiten Stadium (das wir als toxisches bezeichnen können) steigt der Blutdruck, obwohl der Puls nur für gewisse Zeit langsam bleibt; später steigt die Zahl der Herzschläge, diese werden unregelmäßig und es kommt schnell zum Fallen des Blutdruckes oder zum endgültigen Stillstand (Abb. 3).

Wird die Einspritzung schnell gemacht, oder bedient man sich höherer Konzentrationen, so kommt die Erhöhung des Blutdruckes sofort und sehr deutlich zum Vorschein.

Schließlich scheint es, daß die Wirkung dieser Alkaloide auf den arteriellen Druck stärker ist als diejenige der Digitalisglykoside.

Es scheint, daß nach Einspritzung von Atropin die Blutdrucksteigerung viel schneller hervortritt und bei sonst unwirksamen Mengen. Der Verfasser will daran erinnern, daß man auch bei Anwendung von Digitalisglykosiden ein ähnliches Verhalten beobachten kann [Weese (33)].

Die vorherige Einspritzung von größeren Mengen Ergotamin ruft keine Umkehr hervor.

Aus den obenerwähnten Feststellungen, insbesondere der geringen Wirkung auf die Blutgefäße, läßt sich schließen, daß der erhöhte Blutdruck vor allem von einer direkten Wirkung auf den Herzmuskel abhängt; dieser Wirkung stellt sich anfangs, in gewissen Dosen und Zeitgrenzen, eine Vaguswirkung entgegen, die die Zahl der Pulsationen, wie beim Digitalis, zu verlangsamen strebt.

Bei Anwendung toxischer Dosen ist diese Vaguswirkung immer weniger wirksam und der Blutdruck steigt immer höher, bis zu einem Maximum, das dem endgültigen Stillstand vorangeht.

Der Verfasser hat auch Untersuchungen unternommen, um festzustellen, ob die von den Erythrophleinalkaloiden verursachte Druckerhöhung geeignet ist, die Wirkung von Substanzen, die für das Herz toxisch sind, zu bekämpfen. In früheren, zusammen mit Zweifel (37) ausgeführten Untersuchungen sah der Verfasser die Nützlichkeit des Adrenalins beim Bekämpfen der Blutdrucksenkung nach toxischen Dosen von Perkain. Der Verfasser versuchte daher festzustellen, ob auch ein Antagonismus zwischen Perkain und Erythrophleinalkaloiden vorhanden ist.

Spritzt man eine große Dosis von Perkain ein, so kommt es zu einem starken Sinken des Blutdruckes; spritzt man später eines der obenerwähnten Alkaloide ein, so beobachtet man ein rapides Steigen des arteriellen Blutdruckes infolge einer Wiederaufnahme der Herztätigkeit.

Auch die kleinste letale Dosis des Perkains steigt nach Wirkung dieser Alkaloide um vieles. Spritzt man z. B. einem Kaninchen von 1900 g Gewicht eine 0,25‰ige Perkainlösung, je 2 ccm pro Minute und pro kg, ein, so kommt es zu einem Sinken des Blutdruckes und zum Tode nach 0,0025 g pro kg. Spritzt man aber, wenn der Blutdruck schon gesunken ist, eine Perkainlösung in derselben Konzentration zusammen mit Cassain 1 %ig ein, so beobachtet man eine rapide Drucksteigerung und das Tier stirbt erst nach Einspritzung von 0,0055 g von Perkain pro kg und 0,0148 g von Cassain pro kg.

Was den Grad der Wirkung dieser Alkaloide betrifft, so geht aus diesen Untersuchungen klar hervor, daß das aktivste von allen das Cumingin ist; es folgt dann das Erythrophlein, das Homophlein, das Cassain und zum Schluß das Nor-Cassaidin. Grundsätzlich konstatiert man also immer dieselbe Reihenfolge.

Auf die Atmung haben diese Alkaloide grundsätzlich auch einen Einfluß, obwohl dieser nicht so prompt und deutlich hervortritt wie bei der Zirkulation. Dosen, die die Herztätigkeit im chronotrop-negativen Sinne und inotrop-positiven Sinne merklich beeinflussen, haben manchmal auf die Atmung nur einen ganz kleinen Einfluß oder verursachen nur eine Vergrößerung des Atemvolumens, ohne daß die Frequenz stark verändert wird. Größere Dosen und vor allem diejenigen, die eine Erhöhung des arteriellen Blutdruckes verursachen, rufen eine ersichtliche Abnahme der Zahl der Atemzüge hervor, die vor allem während der Ausatmungsphase an Volumen zunehmen. Noch größere Dosen verursachen dyspnoische Erscheinungen und zum Schluß den Atmungsstillstand.

Es ist schwer, mit Sicherheit festzustellen, ob der Atmungsstillstand dem Herzstillstand vorangeht oder folgt. Im allgemeinen scheint es, daß, wenn die Einspritzung schnell gemacht wird, so daß die letale Dosis schnell erreicht wird, der Atmungsstillstand dem Herzstillstand vorangeht; ist die Injektion aber langsam und kommt es zum Tode nur nach längerem Zeitraum, kommt es wohl gleichzeitig zum Herz- und Atmungsstillstand.

Was dann die verschiedenartige Wirkung der einzelnen Alkaloide betrifft, so können hier für die Atmung dieselben Betrachtungen wiederholt werden wie beim Blutdruck.

Was zum Schluß den Vergleich zwischen den Erythrophleinalkaloiden und den Digitalisglykosiden bezüglich ihrer Wirkung auf den arteriellen Druck und die Atmung anbelangt, kann man behaupten, daß die beobachteten Erscheinungen grundsätzlich dieselben sind.

Die Untersuchungen am isolierten Darm des Kaninchens, die nach der Methode von Magnus bei Benutzung des Apparates von Benigni (38) ausgeführt wurden, bewiesen, daß sämtliche obenerwähnten Alkaloide eine intensive Wirkung auf dieses Organ ausüben. Folgende kleinste aktive Dosen wurden festgestellt:

Alkaloid	Kleinste aktive Konzentration in g mol/Liter	Alkaloid	Kleinste aktive Konzentration in g mol/Liter
Nor Cassaidin	$720 \cdot 10^{-9}$	Homophlein	$44 \cdot 10^{-9}$
Cassain	$435 \cdot 10^{-9}$	Cumingin	$37 \cdot 10^{-9}$
Erythrophlein	$50 \cdot 10^{-9}$		

In einer ersten Phase beobachtet man ein rapides Steigen des Tonus, das manchmal auch von einer Verstärkung der automatischen Bewegung

begleitet ist. Ist aber das Steigen des Tonus sehr stark, werden auch die Darmexkursionen in ihrer Weite kleiner. Diese Reizwirkung zeigt sich vor allem an den Langfasern (Abb. 4). Es folgt später eine rapide Erschlaffung;

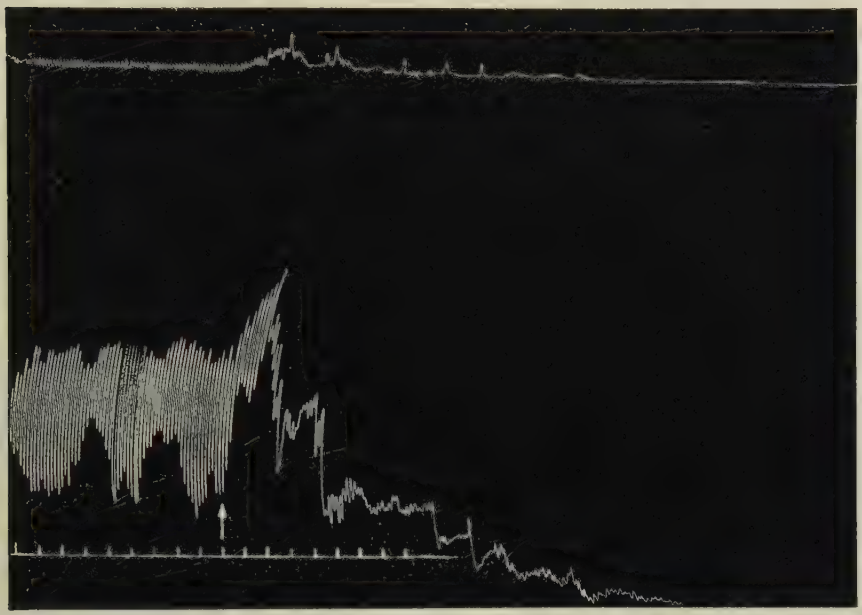


Abb. 4. Isolierter Kaninchendarm in Tyrodelösung nach der Magnusschen Methode. Apparate von Benigni. Homophlein $88 \cdot 10^{-8}$ g mol/Liter. Obere Kurve: Zusammenziehung der Ringmuskelfasern. Untere Kurve: Zusammenziehung der Längsmuskelfasern. Zeitschreibung 10 Sekunden.

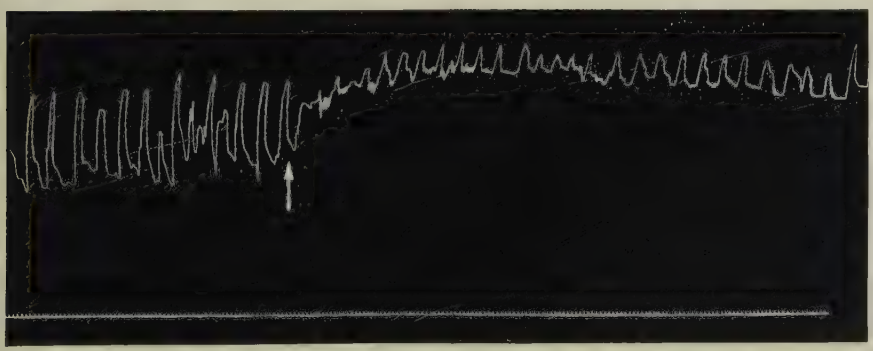


Abb. 5. Uterusstreifen eines nichtgraviden Kaninchens, in Tyrodelösung aufgehängt. Homophlein $44 \cdot 10^{-7}$ g mol/Liter. Zeitschreibung 10 Sekunden.

im allgemeinen fällt der Darmtonus noch tiefer als vor der Wirkung der Alkaloide. Man kann aber nicht von einer wahren Lähmung sprechen, weil das Hinzufügen desselben Alkaloids eine neue Erhöhung des Tonus hervor-

ruft. Die Geschwindigkeit der Entgiftung ist auch bei starken Dosen, die eine rein paralysierende Wirkung besitzen, ansehnlich.

Es ist zum Schluß noch daran zu erinnern, daß Pilokarpin und Adrenalin ihren charakteristischen Einfluß auf den Darm ausüben, auch nach vorheriger Einwirkung der erwähnten Alkaloide. Da pharmakologische Reize auf den isolierten Darm sehr verschiedene und vielseitige Erscheinungen auslösen, kann man nicht ohne weiteres zu endgültigen Schlüssen über den Angriffspunkt dieser Alkaloide kommen, obwohl es wahrscheinlich ist, daß es sich um eine direkte Wirkung auf die glatte Muskelfaser handelt.

Wirkung auf den isolierten Uterus des Kaninchens. (Technik des Magnus. Nichtschwangere Tiere.) Der Uterus des Kaninchens ist gegenüber den Alkaloiden sehr empfindlich. Sie verursachen eine Erhöhung des Tonus und eine Verstärkung der Uterusbewegung (Abb. 5). Es scheint, daß diese Erscheinungen auf einer direkten Wirkung auf die Muskulatur beruhen; jedenfalls kann man annehmen, daß sie nicht von dem Reiz der sympathischen Nervenendigungen abhängig sind. Sie kommen in grundsätzlich gleicher Weise auch nach der Wirkung des Ergotamins auf den Uterus zum Vorschein. Was die Verschiedenheit der Wirkung dieser Alkaloide anbelangt, haben wir folgende kleinste aktive Dosen festsetzen können:

Alkaloide	Kleinste aktive Konzentration in g mol/Liter	Alkaloide	Kleinste aktive Konzentration in g mol/Liter
Nor-Cassaidin	$219 \cdot 10^{-8}$	Homophlein	$88 \cdot 10^{-8}$
Cassain	$108 \cdot 10^{-8}$	Cumingin	$18 \cdot 10^{-8}$
Erythrophlein	$90 \cdot 10^{-8}$		

Wie bekannt, üben auch die Digitalisglykoside auf die muskuläre Uterusfaser eine Reizwirkung aus. Die Konzentrationen entsprechen grundsätzlich denen, die wir bei den untersuchten Alkaloiden festgestellt haben.

Es konnte außerdem beobachtet werden, daß das charakteristische Verhalten dieser Alkaloide dem Calcium gegenüber am isolierten Froschherzen auch am Uterus beobachtet werden konnte. Bei dieser Gelegenheit soll daran erinnert werden, daß Ramson (39) ein analoges Verhältnis bei der Wirkung des Calciums und den Digitalisglykosiden beobachtet hatte.

Das Studium der lokalanästhetischen Wirkung der erythrophleinischen Alkaloide ist aus zwei Gründen interessant:

In erster Linie, weil, wie schon gesagt wurde, das Erythrophlein unter dem Namen von Nervocidin eine Zeitlang als Anaestheticum für das Dentin und die Zahnpulpe in der Zahnheilkunde verwendet wurde, zweitens zur Anstellung eines Vergleiches mit den Digitalisglykosiden, die, wie bekannt, auch eine lokalanästhetische Wirkung haben. Bei dieser Gelegenheit sei an die Arbeiten von Delhaye (40) und von Krawkoff (41) erinnert.

Mit dem Studium der lokalanästhetischen Wirkung beschäftigte sich in diesem Institut, wie auch in dem Pharmakologischen Institut in Modena Trabucchi (42).

Die Methoden, die sich der Beweglichkeit des Goldfisches, der percutanen Anwendung beim Frosch, der Intradermoreaktion am Menschen bedienten, haben sich als wenig zuverlässig erwiesen. Vergleichbare Ergebnisse konnten dagegen mit Hilfe der Instillation in die Conjunctiva des Kaninchens und mit Hilfe der unmittelbaren Applikation am Nerven, bei Anwendung eines isolierten neuro-muskulären Ischiadicus-Gastrocnaemius-Präparates des Frosches erhalten werden.

Mit Hilfe der Hornhautanästhesie im Kaninchen erhielt man nach Instillation von 0,25 ccm einer Lösung verschiedener Alkaloide in den Conjunctiva-Sack (die angewandte Konzentration betraf konstant 0,0043 g mol, was im Falle des Cassains einer 2%igen Lösung entspricht) folgende Ergebnisse: Bei Anwendung des Homophleins und des Cumingins war die Anästhesie nach 3 Stunden vollständig; nach 6 Stunden war sie beim Cumingin noch bedeutend, dagegen fast ganz verschwindend beim Homophlein; nach 12 Stunden fehlte sie praktisch sowohl beim ersten als auch beim zweiten.

Auch in zweimal kleineren Konzentrationen gaben sowohl das Homophlein als auch das Cumingin eine totale Hornhautanästhesie, die einige Stunden andauerte.

Die anderen Alkaloide besitzen eine schwächere anästhetische Wirkung. Im allgemeinen kann jedoch behauptet werden, daß sie alle eine oberflächliche anästhetische Wirkung in folgender Reihenfolge besitzen: Cassain < Nor-Cassaidin < Erythrophlein < Homophlein < Cumingin. Das Perkain ist in seiner Wirkung schwächer als das Cumingin und das Homophlein. In seiner anästhetischen Kraft kann es mit den ersten drei Alkaloiden verglichen werden, die ihrerseits unter sich nur kleine Unterschiede darin aufweisen. Das Cumingin und das Erythrophlein rufen im Auge einen Reizzustand hervor. Nach Erythrophlein dauert der Reizzustand einige Tage an. Bei Anwendung anderer Alkaloide dagegen kommt es überhaupt nicht zu diesem Reizzustand oder doch nur zu einem sehr schwachen.

Was die Experimente am Ischiadicus-Gastrocnemius des Frosches betrifft, so stellte Trabucchi während seiner Untersuchungen der Chronaxievariationen des Nerven fest, daß die Wirkung der Erythrophleinalkaloide als Konduktions-Anaesthetica sehr schwach ist. Auch in ziemlich starken Konzentrationen beseitigen sie die nervöse Reizbarkeit nur nach längerer Zeit. Es macht sich zuerst eine steigende Wirkung der Reobase bemerkbar und dann folgt eine vielmehr plötzliche Evolution in der Richtung der Unreizbarkeit: Die Chronaxie zeigt anfänglich eine gewisse Tendenz zur Verkleinerung, die jedoch langsam und unregelmäßig vor sich geht, so daß man keinen quantitativen Vergleich über den anästhetischen Wert ziehen

kann. Auch am Ischiadicus des Kaninchens beobachtete man nach Cassain eine sehr schwache Wirkung.

Will man eine Reihenfolge aufstellen, so erhält man:

Nor-Cassaidin<Cumingin<Cassain<Homophlein.

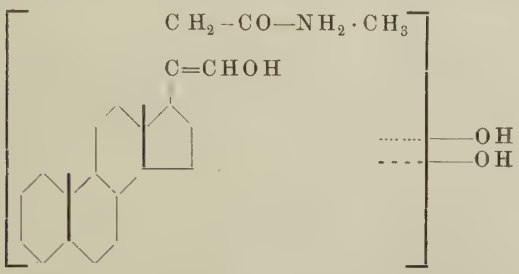
Aber auch die Wirkung des Homophleins ist immer schwächer als die Wirkung des Perkains bei Anwendung analoger Konzentrationen. Vom praktischen Gesichtspunkt aus gesehen scheint es uns, daß die Alkaloide des Erythrophleums zur Schleimhautanästhesie in Betracht gezogen werden können, jedoch kann nicht an ihre Verwendung zur Anästhesie der Nervenstämme gedacht werden. Es steht jedoch fest, daß in der Praxis die langsam eintretende, aber andauernde Anästhesie, die für die Erythrophleumalkaloide an der oberflächlichen Schleimhaut charakteristisch ist, einen viel größeren Wert hätte, wenn man sie am sensiblen Nervenstamm anwenden könnte. Als Schleimhautanaesthetica sind Cumingin und Homophlein die wirksamsten. Aber ihrer größeren Wirksamkeit entspricht auch eine größere Giftigkeit. Zieht man jedoch in Betracht, daß das Homophlein auf die Hornhaut fast wie das Cumingin wirkt und daß es — wenn auch etwa dreimal giftiger als Cassain und Nor-Cassaidin — eine viel stärkere anästhetische Wirkung als diese Alkaloide besitzt, scheint es, daß unter allen bisher untersuchten Alkaloiden des Erythrophleums das Homophlein den ersten Platz für eine eventuelle Verwertung im Gebiet der Schleimhautanästhesie einnehmen darf. Auch im Vergleich mit dem Perkain kann behauptet werden, daß das Homophlein, auch wenn es giftiger ist, jenes an Wirksamkeit vor allem hinsichtlich der Dauer der Anästhesie übertrifft.

Nach Lapicque (43) löst das Strophantin in einer Konzentration 1 : 200 erst nach einer halben Stunde Unreizbarkeit und sehr schwache Veränderungen der Chronaxie aus. Es handelt sich also um ein vollständig entsprechendes Verhalten, wie es bei den Erythrophleinalkaloiden beobachtet wurde; dieses Verhalten zeigt uns andererseits den Unterschied zwischen der anästhetischen Wirkung dieser Substanzen und jener der Kokaingruppe.

Diskussion.

Zum Schluß kann behauptet werden, daß die Analogien mit den Digitalisglykosiden sehr zahlreich sind; es steht aber andererseits fest, daß auch Unterschiede zwischen beiden Gruppen der geprüften pharmakologischen Substanzen bestehen. Diesen Ähnlichkeiten und Unterschieden der pharmakologischen Wirkung entsprechen auch Ähnlichkeiten und Verschiedenheiten des chemischen Aufbaus. Genauer darauf einzugehen, scheint dem Verfasser vorläufig nicht am Platze, vor allem aus dem Grunde, da die chemischen Untersuchungen über den Aufbau der Alkaloide noch

nicht so weit sind, um eine vollständige Rekonstruktion der Molekular-architektur zu erlauben. Es scheint jedenfalls, daß man aus den Arbeiten Dalmas mit aller Wahrscheinlichkeit annehmen kann, daß „es sich um Methylamide von Säuren handelt; die der Basisstruktur der Oxylactone, die als cardiokinetische Genine bekannt sind, sehr ähnlich sind."



Es muß hinzugefügt werden, daß, was die Alkaloide Cumingin und Cumingain anbelangt, Dalma zu dem Schlusse gelangt ist, daß sie verseifbar sind, und daß sie in ein saures und ein alkalisches Fragment zerfallen; dieses letztere ist jedoch nicht das Methylamin und es sind Gründe vorhanden, anzunehmen, daß Zusammenhänge mit den Sterinen bestehen.

Vergleichen wir die obenerwähnten Moleküle mit denjenigen der Genine, so finden wir ersichtliche Berührungspunkte, vor allem was die Anwesenheit in beiden Fällen des Zyklopentenphenantrenkernes anbelangt.

Bei den betrachteten Alkaloiden ist der Stickstoff vorhanden; es ist bei dieser Gelegenheit noch daran zu erinnern, daß der Stickstoff auch in anderen Substanzen, die diesen Kern haben und eine digitalisartige Wirkung besitzen, enthalten ist, und daß diese das Sekretionsprodukt der sogen. Parotisdrüsen im Frosche sind. Auch für diese Substanzen sind Ähnlichkeiten und Unterschiede mit den Digitalisglykosiden gefunden worden (44).

Es könnte von Interesse sein, genauere Vergleiche anzustellen, um unter anderem auch festzustellen, welche Gruppe die Digitaliswirkung besitzt (es scheint, daß die untersuchten Alkaloide die Laktongruppe nicht besitzen), aber der Verfasser wiederholt, daß die Diskussion bei unseren heutigen chemischen Kenntnissen über die Erythrophleinalkaloide nicht von großem Nutzen sein kann. Dies um so weniger, als Jakobs bereits im Jahre 1933 (45) feststellte und später Stoll (46) (für die Scilla-Glykoside) bekräftigte, daß „Our present knowledge does not point to any particular group in the aglucone which is responsible but to the molecule as a whole".

Wie es auch sei, so ist nach den oben angeführten Untersuchungen doch zu hoffen, daß die genauere chemische Kenntnis der untersuchten Alkaloide einen nützlichen Beitrag zum Studium eines der verwickeltsten Probleme der modernen Pharmakologie: der Zusammenhänge zwischen chemischer Struktur und pharmakologischer Wirkung geben wird.

Zusammenfassung.

In vorliegender Arbeit hat der Verfasser die Ergebnisse der pharmakologischen Untersuchungen behandelt, die in letzter Zeit mit folgenden, aus dem Erythrophleum Guineense und E. Couminga isolierten Alkaloiden unternommen und ausgeführt worden sind: Nor-Cassain, Cassain, Homophlein und Cumingin.

Aus Vergleichsgründen wurde auch die Wirkung des Erythrophleins, eines schon seit längerer Zeit bekannten Alkaloids, geprüft.

Im allgemeinen kann behauptet werden, daß die behandelten Alkaloide zwei durch Intensität und Wichtigkeit im Vordergrund stehende Wirkungen ausüben:

A. Die digitalisartige Wirkung.

B. Die lokalanästhetische Wirkung.

A. Was die digitalisartige Wirkung anbetrifft, unterscheidet sich diese von jener der bekannten Glykoside durch einen schwächeren Einfluß auf die isolierten Gefäße des Frosches und des Kaninchens; eine stärkere Wirkung auf den arteriellen Blutdruck des Kaninchens; eine viel stärkere lokalanästhetische Wirkung auf die Bindehaut des Kaninchens.

B. Die Wirkung auf das sensible Leitungsvermögen ist sehr gering und ist immer geringer als die des Perkains. Die schmerzstillende Fähigkeit auf die Schleimhäute tritt langsam ein, dauert aber länger und ist stärker als die des Kokains und der des Perkains ähnlich. Man hat aber eine erhebliche Reizwirkung auf die Bindehaut beobachtet.

Was die Wirkung dieser Alkaloide im allgemeinen betrifft, so kann man die Giftigkeit und die Wirkung auf das isolierte Herz berücksichtigend, diese Reihenfolge festlegen:

Nor-Cassaidin < Cassain < Erythrophlein < Homophlein < Cumingin.

Eines von diesen Alkaloiden, das Cassain, unterscheidet sich, was die Qualität anbelangt, von den anderen durch seine konvulsionserregende Wirkung.

Ein anderer Unterschied, auf den hingewiesen werden soll, ist folgender: Das Cumingin hat eine sichere hämolytische Wirkung; es ist wahrscheinlich, daß auch das Erythrophlein und das Homophlein eine hämolytische Wirkung ausüben. Die anderen Alkaloide besitzen keine hämolytische Wirkung (42).

Was den Angriffspunkt anbelangt, so geht aus sämtlichen Untersuchungen und vor allem aus dem Studium des Antagonismus gegenüber pharmakologischen Substanzen des vegetativen Nervensystems hervor, daß eine Wirkung auf das Vaguszentrum (der Mechanismus soll noch bestimmt werden) und eine direkte Wirkung auf die glatte und gestreifte Muskelfaser vorliegt; entsprechend der Wirkung der Digitalisglykoside. Betrachtungen über Beziehung zwischen chemischem Bau der geprüften Alkaloide und pharmakologischer Wirkung werden angestellt.

Literatur.

1) Gallois, W., u. E. Hardy: J. Pharmacie et Chim. **24**, 25 (1876); Bull. Soc. Chim. biol. (Fr.) **26**, 39 (1876). — 2) Harnack, E.: Arch. Pharmaz. **234**, 561 (1896). — 3) Laborde: Ann. Musee Col. Marseille **1907**, 305. — 4) Harnack, E., u. R. Zabrocki: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **15**, 403 (1882). — 5) Harnack, E.: Arch. Pharmaz. **234**, 561 (1896). — 6) Kralsheimer, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **62**, 296 (1910). — 7) Power, F. B., u. A. H. Salway: Amer. J. Pharmacy **84**, 337 (1912). — 8) Maplethorpe, C. W.: Pharmaceut. J. **111**, 85 (1923). — 9) Lewin, L.: Arch. path. Anat. **111** (1888). — 10) Polak, J. B., u. A. J. L. Terwen: Ndld. Tschr. Geneesk. **2**, 1386 (1917); Z. exper. Path. u. Ther. **19**, 361 (1918). — 11) Heffter: Handb. exper. Pharmak., Erg.-Werk, **1**, 76—78 (1935). — 12) Chen, K. K., A. L. Chen u. R. C. Anderson: J. amer. pharmaceut. Assoc. **25**, 576 (1936). — 13) Arkövy: Öst.-ung. Vjschr. Zahnhk. **17**, 221 (1901). — 14) Hesse, E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **119**, 259 (1927). — 15) Meyer, H. H., u. R. Gottlieb: Exper. Pharmakol. **1933**, S. 336. — 16) Dalma, G.: Ann. Chim. Appl. **25**, 569 (1935). — 17) Dalma, G.: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **11**, 791 (1936). — 18) Dalma, G.: X. Congr. Intern. Chimica Roma (1938). — 19) Santi, R., u. B. Zweifel: Boll. Soc. ital. Biol. sper. **11**, 758 (1936). — 20) Santi, R., u. B. Zweifel: Ebenda **11**, 760 (1936). — 21) Trabucchi, E.: Ebenda **12**, 234 (1937). — 22) Santi, R., u. B. Zweifel: Ebenda **12**, 337 (1937). — 23) Cacciavillani, B.: Ebenda **12**, 339 (1937). — 24) Santi, R.: Ebenda **12**, 720 (1937). — 25) Santi, R.: Ebenda **12**, 721 (1937). — 26) Pellizzari, C. R., u. R. Santi: Ebenda **12**, 723 (1937). — 27) Santi, R., u. B. Zweifel: Ebenda **12**, 724 (1937). — 28) Beccari, E.: Atti Soc. Sci. Ferrara **1937**. — 29) Chen, K. K., C. C. Hargreaves u. W. T. Winchester: J. amer. pharmaceut. Assoc. **27**, 9 (1938). — 30) Chen, K. K., C. C. Hargreaves u. W. T. Winchester: Ebenda **27**, 307 (1938). — 31) Johannessohn, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **78**, 92 (1915). — 32) Meneghetti, E.: Atti Soc. med.-chir. Padova **1925**. — 33) Weese, H.: Digitalis **1936**. — 34) Spadolini, I.: Arch. Fis. **14**, 236 (1916). — 35) Dale u. Laidlow: Heart **1909**. — 36) Gunn, I. W.: Trans. Roy. Soc. S. Africa **9**, 197 (1921). — 37) Santi, R., u. B. Zweifel: Boll. Soc. ital. biol. sper. **11**, 113 (1936). — 38) Benigni, R.: Arch. Fis. **29**, 245 (1930). — 39) Ransom, F.: J. Pharmacol. (Am.) **15**, 181 (1930). — 40) Delhaye, M. A.: Bull. Soc. Roy. Sci. Med. et Nat. Bruxelles **1907**. — 41) Krawkoff: Handb. Pharm. **1907**. — 42) Trabucchi, E.: Arch. Farmacol. sper. **64**, 97 (1937). — 43) Lapicque, L. u. M.: C. R. Soc. Biol. **89**, 315 (1923). — 44) Chen, K. K., u. A. L. Chen: J. Pharmacol. (Am.) **49**, 561 (1933). — 45) Jacobs, W. A.: Phys. Rev. **13**, 224 (1933). — 46) Stoll, A., u. A. Hoffmann: Helv. Chim. Acta **18**, 401 (1935).

Aus dem Physiologischen Laboratorium der I. G. Farbenindustrie A.-G.,
Werk Wuppertal Elberfeld.

Beziehungen zwischen chemischer Form und Wirksamkeit von Vitamin A in den Konzentraten aus Fischleberölen.

Ein Beitrag zur Auswertung von Vitamin A-Präparaten.

Von

Dr. W. Grab.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 15. Juni 1939.)

I.

Einleitung und Fragestellung.

Die chemische Natur des Vitamin A ist durch die Untersuchungen von Karrer sowie Heilbron schon in den Jahren 1931/32 aufgeklärt worden, und die aufgestellte Konstitutionsformel wurde gesichert durch die Darstellung und Identifizierung des natürlichen und synthetischen Perhydro-Vitamin A, sowie durch die erst kürzlich gelungene Synthese des Vitamin A selbst (1). Auch seine physiologische Bedeutung im Organismus ist heute in großen Zügen bekannt und seine biologischen Wirkungen im einzelnen vielfach untersucht (2). Man könnte glauben, daß damit auch alle Fragen der mengenmäßigen Bestimmung von Vitamin A mit chemischen und biologischen Verfahren völlig geklärt wären, zumal durch die „Internationale Konferenz zur Standardisierung von Vitaminen" schon 1931 und 1934 besondere Richtlinien herausgegeben worden sind, die die Auswertung von Vitamin A-Präparaten auf eine einheitliche Grundlage stellen sollten (3).

In diesen von den erfahrenen Vitaminfachleuten ausgearbeiteten Richtlinien wird festgelegt, daß die Wirksamkeit von Vitamin A-Präparaten durch Vergleich mit einer internationalen Standardsubstanz ermittelt werden soll, und die internationale Einheit wird definiert als „die Vitamin A-Wirksamkeit von 0,6 γ des internationalen Standardpräparates; eine solche Einheit ist enthalten in 0,6 γ (0,6 Mikrogramm) von reinem β-Carotin".

Die Grundlage für die Auswertung von Vitamin A bildet also die Feststellung seiner Wirksamkeit, die natürlich einzig durch einen biologischen Versuch erfaßt werden kann.

Die pharmakologische Bestimmung der Vitamin A-Wirkung im biologischen Versuch besteht gewöhnlich darin, daß man das Vitamin A

zum „limitierenden Faktor" im Stoffwechsel werden läßt und nun die Wirkungen bekannter Zulagen von Vitamin A quantitativ ausmißt. Die Durchführung solcher Versuche ist mühevoll, langwierig und kostspielig. Selbstverständlich erfaßt der Tierversuch aber auch alle Stoffe, die im Organismus eine Vitamin A-Wirksamkeit entfalten können, ohne Rücksicht auf ihre chemische Natur, also z. B. auch die Carotine (4—7).

Da das Vitamin A neben seiner biologischen Wirksamkeit auch noch einzelne besonders charakteristische physikalische und chemische Eigenschaften besitzt, hat man auch diese schon frühzeitig zu seinem Nachweis herangezogen und zwei weitere Verfahren ausgearbeitet, die — mit gewissen Einschränkungen — auch Rückschlüsse auf die Menge des vorhandenen Vitamin A in einem Untersuchungsmaterial zulassen.

Die physikalische Messung des Gehalts an Vitamin A benutzt die „Farbe" des reinen Vitamin A, die sich aus seiner geringen Durchlässigkeit für ultraviolettes Licht ergibt. Man mißt spektrophotometrisch die Lichtabsorption der zu prüfenden Lösungen bei dem für Vitamin A charakteristischen Maximum von 328 mμ und drückt dieses Meßergebnis zweckmäßig im spezifischen Extinktionskoeffizienten E aus. Der Extinktionskoeffizient gibt ja bekanntlich einen Anhaltspunkt über die Konzentration eines lichtabsorbierenden Stoffes in einer Lösung (8—11).

Die chemische Messung des Gehalts an Vitamin A benutzt die bekannte Carr-Price-Reaktion, bei der in Gegenwart von Vitamin A durch den Zusatz von Antimontrichlorid eine tiefblaue Färbung entsteht. Durch konventionelle Festlegung einiger Einzelheiten dieses Verfahrens ist es möglich geworden, auch mit dieser dritten Versuchsanordnung quantitative Unterschiede im Vitamin A-Gehalt zu erfassen (12, 13).

Man könnte nun meinen, daß durch die beiden verhältnismäßig einfachen chemischen und physikalischen Verfahren der Nachweis von Vitamin A besonders leicht und genau möglich wäre; dabei darf man aber nicht vergessen, daß das Vitamin A ja praktisch nie rein vorliegt, sondern stets neben einer mehr oder weniger großen Menge von Begleitsubstanzen nachgewiesen werden muß; und gerade dabei macht sich nun der wesentlichste Nachteil der physikalischen und chemischen Verfahren entscheidend bemerkbar, daß sie nämlich für den Nachweis von Vitamin A leider ziemlich unspezifisch sind: sie erfassen einerseits ja auch Stoffe, die keinerlei Vitamin A-Wirksamkeit besitzen und geben andererseits keine oder nur ungenügende Reaktion, selbst wenn Vitamin A oder äquivalent wirkende Stoffe sicher vorhanden sind; der biologische Versuch ist also zur Nachprüfung der physiko-chemischen Meßergebnisse nicht zu entbehren.

Vergleicht man nun die Resultate der physikalischen und chemischen Bestimmung von Vitamin A einerseits mit den biologischen Messungen der Vitamin A-Wirksamkeit andererseits, so muß noch ein weiterer Umstand besonders berücksichtigt werden: daß nämlich die beiden Arten der Auswertung in ihrem Wesen grundlegend voneinander verschieden sind.

Die physikalisch-chemischen Messungen des Vitamin A sagen bestenfalls nur etwas aus über den Gehalt eines Präparates an Vitamin A in Gramm, ohne Rücksicht auf die davon tatsächlich resorbierten, also biologisch wirksam werdenden Anteile.

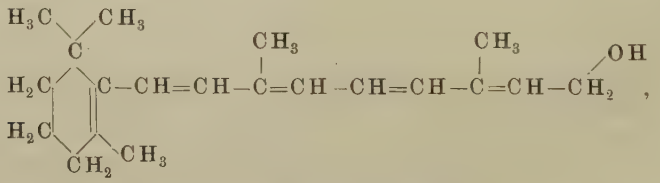
Die biologische Auswertung ermittelt dagegen ausschließlich die Wirksamkeit in internationalen Einheiten, und erfaßt damit auch alle äquivalent wirkenden Stoffe, sowie Art der Darreichung und die biologischen Vorgänge der Resorption und Verteilung im Organismus.

Bei diesem Sachverhalt ist es nicht verwunderlich, daß Unstimmigkeiten zwischen den Ergebnissen der biologischen und physikochemischen Bestimmungen von Vitamin A auftreten, die in den letzten Jahren schon mehrfach Gegenstand von besonderen experimentellen Untersuchungen gewesen sind (50, 47, 48).

Daß man erst in der letzten Zeit auf diese fehlende Übereinstimmung aufmerksam wurde, hat seinen Grund darin, daß erst mit der zunehmenden Verfeinerung der Untersuchungsverfahren die bestehenden Unstimmigkeiten deutlich genug in Erscheinung traten.

In eigenen Versuchen anläßlich der pharmakologischen Auswertung des Vitamin A-Präparates „Vogan" haben auch wir diese fehlende Übereinstimmung zwischen den verschiedenen üblichen Verfahren zur Auswertung von Vitamin A beobachtet, und dabei gelang es uns, eine besondere Beziehung zwischen der chemischen Form des Vitamin A und seiner biologischen Wirksamkeit aufzuzeigen (vgl. 14).

Vitamin A ist ein einwertiger Alkohol der nachstehenden chemischen Konstitution:



den Karrer (1) als „Axerophtol" bezeichnete. An seiner alkoholischen Hydroxylgruppe kann er mit organischen Säuren verestert sein. Vitamin A kann somit also als freier Alkohol oder als Ester vorliegen; und unsere nachstehend beschriebenen Untersuchungen galten dem Nachweis, daß zwischen diesen beiden Formen von Vitamin A wesentliche Unterschiede in der biologischen Wirksamkeit bestehen. Die Klärung dieser Frage hat auch erhebliche praktische Bedeutung, da Vitamin A in den therapeutisch angewandten Präparaten (Lebertran und hochwertigen Konzentraten) sowohl in der Esterform wie auch als freies Axerophtol vorliegen kann.

Da Vitamin A, wie seine Konstitutionsformel zeigt, fünffach konjugiert zueinander stehende Doppelbindungen enthält, sind mehrere Stereoisomere davon möglich, die sich durch cis-trans-Stellung der einzelnen Glieder unterscheiden. Ob sich das

Vitamin A unter Berücksichtigung der Stereoisomerie in verschiedene chemische Formen aufteilen läßt, muß vorläufig dahingestellt bleiben, und damit auch die Frage, ob die verschiedene sterische Anordnung der Doppelbindungen einen Einfluß auf die biologische Wirksamkeit hat.

Ähnliche Wirkungsunterschiede wie wir, fanden zwischen Axerophtol und Vitamin A-Ester, unabhängig von uns auch Moll und Reid (15) in ihren gleichzeitig durchgeführten Untersuchungen.

Um den Unterschied in der Wirksamkeit der beiden Formen von Vitamin A überzeugend zu beweisen ist es notwendig, die üblichen Verfahren zu seiner Auswertung und ihre verschiedenen Unzulänglichkeiten kritisch zu besprechen. Dies ist um so mehr angezeigt, als bei der routinemäßigen Nachprüfung von Vitamin A-Präparaten manchmal von den einzelnen Methoden mehr erwartet oder verlangt wird, als sie bestenfalls leisten können. Wie überall in der experimentellen Forschung muß man die Leistungsfähigkeit jeder Methode kennen, um den Wert der Ergebnisse richtig beurteilen zu können, „denn nur die Methoden sind es ja, die die Resultate liefern".

II.

Die Verfahren zur Bestimmung des Vitamin A und die Beziehung der dabei gemessenen Werte zueinander.

Für die exakte Dosierung aller therapeutisch verwendeten Stoffe ist es erforderlich, daß ihre Wirksamkeit eindeutig angegeben werden kann.

Bei chemisch einheitlichen Stoffen eines bekannten Wirkungstypus genügt es, den gewichtsmäßigen Gehalt einer Arzneizubereitung an diesem Wirkstoff anzugeben; denn jeder Arzt hat ja aus seiner Erfahrung von der Wirksamkeit einer so eingestellten Arzneiform ohnehin eine zutreffende Vorstellung. Die Bestimmung des Wirkstoffgehalts erfolgt in diesen Fällen mit einfachen chemischen Methoden.

Bei chemisch nicht einheitlichen Wirkstoffen von komplexer biologischer Wirksamkeit muß, da andere Methoden versagen, die pharmakologische Auswertung ihrer Wirkungsstärke für die Dosierung zugrunde gelegt werden. Zu diesen letzteren Stoffen gehört das Vitamin A, das ja in den üblichen Handelspräparaten nicht rein vorliegt, sondern in Form eines aus Fischleberölen gewonnenen besonders Vitamin A-reichen Konzentrates. Wie eingangs schon erwähnt, wird für die Auswertung eines Vitamin A-Präparates ausschließlich die Bestimmung seiner Wirksamkeit zugrunde gelegt, die man im biologischen Versuch durch Vergleich mit der Wirksamkeit des internationalen Standardpräparates erhält.

Da die Verläßlichkeit des biologischen Versuchs gelegentlich immer wieder in Zweifel gezogen wird, sei hier kurz auf die wichtigsten Einwände gegen den Tierversuch eingegangen.

1. Die biologische Auswertung von Vitamin A. Eine verläßliche biologische Auswertung setzt voraus, daß es eine spezifische,

empfindliche und genaue Versuchsanordnung gibt, die es erlaubt, die Wirksamkeit eines Präparates mit der des entsprechenden Standardpräparates zu vergleichen.

Diese Grundforderungen für einen biologischen Versuch sind nun bei der quantitativen Bestimmung der Wirksamkeit von Vitamin A-Präparaten durchaus nicht in idealer Weise erfüllbar. Im einzelnen verhält es sich folgendermaßen:

a) Spezifität. Die „Spezifität" einer Wirkung ist selbstverständlich ja nur ein relativer Begriff; sie wird umgrenzt durch die Beantwortung der beiden Fragen: Wieviel verschiedene Substanzen haben qualitativ dieselben oder ähnliche Wirkungen? und: Bei welchen Dosen dieser Substanzen tritt diese Wirkung ein?

Die Spezifität des Vitamin A-Wachstumsversuchs beruht auf dem alleinigen Fehlen von Vitamin A in der Grundkost, das einzig nur ersetzt werden kann durch Stoffe mit der biologischen Wirkung von Vitamin A. Da die bekannten anderen Vitamine sowie auch andere Wuchsstoffe mit der spezifischen Wachstumswirkung des Vitamin A bei gleichzeitiger A-Mangelkost in keiner Weise interferieren, ist die Spezifität des Wachstumsversuchs für Vitamin A als ausreichend anzusehen.

b) Empfindlichkeit. Der Vitamin A-Wachstumsversuch erlaubt, die Wirkung von 0,5—1 γ Vitamin A als tägliche Dosis für ein Tier sicher zu erkennen, ist also sehr empfindlich.

c) Genauigkeit. Der biologische Versuch soll genau sein, d. h. kleine Unterschiede in der Stärke von zwei Präparaten mit Sicherheit noch erkennen lassen.

Die Genauigkeit des Vitamin A-Versuchs ist wegen der großen biologischen Streuung in der Empfindlichkeit der einzelnen Versuchstiere leider nur gering. Zahlenmäßig läßt sich die relative Genauigkeit des Vitamin A-Versuchs erfassen durch die Angabe der „Wahrscheinlichkeit P", daß ein beobachtetes Versuchsergebnis in 99 von 100 Fällen innerhalb gewisser Grenzen liegt. Für den 5 Wochen dauernden Vitamin A-Wachstumsversuch wird in der britischen Pharmacopoe (16) angegeben für $P = 0{,}99$, daß bei Verwendung von 10 Ratten für 100 in gleichartiger Weise durchgeführte Versuche das Ergebnis in 99 Fällen größer ist als 37% und kleiner ist als 272% des „wahren" Ergebnisses M ($M \pm 2{,}576\ \varepsilon$). Diese Genauigkeit ist verglichen mit der anderer biologischer Auswertungsverfahren für Vitamine wesentlich geringer, denn bei Vitamin B_1, C oder D ist die Genauigkeit mindestens doppelt so groß.

Die Genauigkeit des Vitamin A-Versuchs ist von der sorgfältigen Einhaltung der Versuchsbedingungen abhängig. Eine Erhöhung der Genauigkeit ist nur durch eine Vermehrung der gleichzeitig eingesetzten Versuchstiere einheitlicher Abstammung möglich.

d) Standardpräparat. Da die Stärke eines Präparats in irgendeinem Maß zuverlässig und reproduzierbar angegeben werden muß, ist eine Vergleichung seiner Wirksamkeit mit der eines Standardpräparats unbedingt erforderlich. Das von der Standardisierungskommission dafür vorgesehene internationale Standardpräparat ist eine 0,03%ige Lösung von β-Carotin in Cocosöl (3).

Die Wahl des chemisch gut definierten und gut haltbaren β-Carotins als Standardpräparat für Vitamin A stellt nur einen Notbehelf dar, der durch die biologisch gleichartige Wirkung des Carotins gerechtfertigt wird. Dabei muß man aber bedenken, daß β-Carotin mit dem zu prüfenden Vitamin A-Präparat stofflich inkongruent ist. Der Wirkungsgrad des β-Carotins hängt von seiner Spaltung in der Leber der Versuchstiere ab; über das Ausmaß dieser Spaltung ist man noch nicht übereinstimmender Meinung (21).

Trotz der ihm anhaftenden Schwierigkeiten kann also der Ratten-Wachstums-Versuch doch als verläßliches biologisches Verfahren zur Messung der Wirksamkeit von Vitamin A gelten, wenn er nur in richtiger Weise durchgeführt wird*.

Wegen des großen Aufwands an Zeit, Platz, Mühe und Kosten beim Tierversuch hat man sich schon seit langem bemüht, die bekannten physikalischen und chemischen Reaktionen auf Vitamin A zu quantitativen Bestimmungsmethoden auszubauen. Aber auch hierbei ergaben sich eine Reihe von Schwierigkeiten, auf die kurz eingegangen werden soll.

2. Die physikalische Messung von Vitamin A. Wenn man von reinem Vitamin A spektralphotometrisch die Lichtabsorption bei dem charakteristischen Maximum von 328 mμ mißt, so erhält man als spezifischen Extinktionskoeffizienten $E\ \frac{100\ \text{ccm}}{\text{g} \cdot \text{cm}}$ Werte um 1800. Da der E-Wert proportional der Konzentration eines Stoffes ist, so kann man den Gehalt an lichtabsorbierender Substanz in einem Präparat errechnen. Zu bedenken ist nur, daß die Lichtabsorption einer Lösung nicht nur auf Vitamin A bezogen werden darf, da es ja sogar im Lebertran (47) Substanzen mit dem gleichen Absorptionsspektrum gibt. Hickman (22) gelang es, eine solche Fraktion zu isolieren, die aber keinerlei Vitamin A-Wirksamkeit besaß (spurious Vitamin A). Andererseits kann durch die Anwesenheit von Begleitsubstanzen neben Vitamin A das charakteristische Absorptionsmaximum des Vitamin A so verschoben sein, daß man nur durch den Tierversuch entscheiden kann, ob es sich hierbei noch um Vitamin A handelt oder nicht (27, 30, 39). Durch Abtrennung der verseifbaren Anteile kann man zwar erreichen, daß die Messung der Lichtabsorption in der unverseifbaren Fraktion weniger gestört ist; aber auch dann hat man noch damit zu rechnen, daß das Absorptionsmaximum des Vitamin A durch andere breite Absorptionsbanden überlagert wird; dazu kommt noch, daß der Absorptionskoeffizient bei Prüfung der isolierten unverseifbaren Fraktionen stärker von der Art des verwendeten Lösungsmittels abhängt, als bei den direkt geprüften Leberölen (56).

3. Die chemische Bestimmung von Vitamin A. Die nach Zusatz von Antimontrichlorid-Reagens zu Vitamin A-haltigen Lösungen auftretende Blaufärbung (Carr-Price-Reaktion) ist zwar für Vitamin A charakteristisch, sie wird aber auch von einer Reihe anderer Substanzen gegeben, die keine Vitamin A-Wirksamkeit besitzen (63). Dazu kommt noch, daß die Blaureaktion durch Begleitstoffe gehemmt (31—33) werden kann, wie man das aus den bekannten Abweichungen zwischen dem Blau-

* Mit der kürzlich von Wagner (60) beschriebenen Versuchsanordnung, die Wirksamkeit von Vitamin A-Präparaten durch die Heilung der Keratomalacie auszuwerten, haben wir keine eigene Erfahrung, und daher auch kein Urteil über ihre Genauigkeit und praktische Brauchbarkeit.

wert von Dorschlebertran und dessen unverseifbarer Fraktion schon kennt (10, 13, 34, 35). Aus neueren Untersuchungen (36) entnimmt man weiter, daß bei der Oxydation diese Hemmungsstoffe kaum verändert werden, während das Vitamin A rasch der Zerstörung anheimfällt.

4. Beziehung zwischen den biologisch und physiko-chemisch gemessenen Werten für Vitamin A. Da die physikalischen und chemischen Verfahren zur Bestimmung von Vitamin A also in verschiedenster Weise gestört sein können und dadurch unzuverlässig werden, muß man durch häufige Nachkontrollen im Tierversuch die erhaltenen Befunde sichern. Bei Abweichungen zwischen physiko-chemischer Messung und biologischem Befund ist natürlich stets dem letzteren, also der Bestimmung der Wirksamkeit, der Vorrang zuzuerkennen, wie dies auch eine Vorschrift des britischen Arzneibuches (16) ausdrücklich angibt.

Um nun nicht in jedem Falle die umständliche und kostspielige biologische Auswertung durchführen zu müssen, ist man so vorgegangen, daß man bei einzelnen Präparaten zunächst ihre biologische Wirksamkeit feststellte, und andererseits auch physikalisch und chemisch den Gehalt an Vitamin A bestimmte. Die drei zu einem Präparat gehörigen Werte setzte man nun zueinander in Beziehung, und durch Bildung der Quotienten aus Wirksamkeit und E-Wert, bzw. Wirksamkeit und Blauwert wurde der Zusammenhang zwischen den einzelnen Messungen zahlenmäßig erfaßt; man erhielt auf diese Weise Faktoren, die es ermöglichen sollten, daß aus der physikalischen Messung unmittelbar die biologische „Wirksamkeit" errechnet werden konnte.

Von diesen „Umrechnungsfaktoren" erlangte insbesondere jener zwischen Extinktionskoeffizienten und Wirksamkeit eine gewisse Bedeutung, da gerade die Messung des E-Wertes bei Vitamin A wegen seines hohen molekularen Extinktionskoeffizienten einfach und genau ist. An verschiedenen Lebertranen und Vitamin A-Konzentraten stellte man nun den E-Wert $\frac{100 \text{ ccm}}{\text{g} \cdot \text{cm}}$ und die Wirksamkeit (in internationalen Einheiten pro Gramm) fest, und als Quotient aus diesen Werten ergaben sich dabei Ziffern zwischen 1300 und 2380. Als Mittelwert wurde die Zahl 1600 angesehen, die also nun als Umrechnungsfaktor aus dem E-Wert eines Präparats in seine Vitamin A-Wirksamkeit gelten sollte (37).

Auch die internationale Standardisierungs-Kommission hat bei Vitamin A-Präparaten die Messung des E-Wertes unter bestimmten Bedingungen als behelfsmäßiges Verfahren zu ihrer Wertbestimmung zugelassen. Als Umrechnungsfaktor aus dem E-Wert eines Präparats in seine biologische Wirksamkeit wurde der oben erwähnte Faktor 1600 vorgesehen (3b).

In der Folgezeit wurde nun dieser Faktor 1600 zur Errechnung der allein maßgebenden biologischen Wirksamkeit allgemein verwendet.

Gerade aber dies hat zu einer Reihe von Mißverständnissen über die wirkliche Wirksamkeit von Vitamin A-Präparaten geführt. Es zeigte sich nämlich, daß dieser Umrechnungsfaktor 1600 nur bedingte Gültigkeit besitzt, und daß seine allgemeine Verwendung zu völlig entstellten Ergebnissen führen mußte.

Als Ursache für dieses Versagen des Umrechnungsfaktors können nun mehrere Umstände in Betracht gezogen werden; z. B.:

Bei der Oxydation von Vitamin A durch Luftsauerstoff bleiben der Carr-Price-Wert und der Spektrophotometerwert länger erhalten als die biologische Wirksamkeit, so daß also in einem gegebenen Zeitpunkt keinerlei Parallelität zwischen physiko-chemischer Messung und Wirksamkeit mehr besteht (38). Zu einer ganz ähnlichen schiefen Beziehung zwischen *E*-Wert und Wirksamkeit kommt es auch bei der Einwirkung von ranzigem Fett oder von Licht auf Vitamin A. Hierbei kommt es sogar infolge der Oxydation des Vitamin A zu einer Erhöhung des *E*-Wertes über den wirklichen Vitamin A-Gehalt hinaus (39).

Neben dieser Veränderung der biologischen Wirksamkeit durch langsame Zerstörung des Vitamin A spielt aber auch die Lösungsform, in der das Vitamin A zur Resorption geboten wird, für den biologischen Auswertungsversuch eine wichtige Rolle. Schon 1934 hat Coward (40) beschrieben, daß Vitamin A in verschiedenen Ölen gelöst fast unwirksam ist, und Andersen (41) hat bei Menschen dieselbe Beobachtung gemacht.

Auch wir hatten Gelegenheit, diese Unverläßlichkeit des Umrechnungsfaktors 1600 festzustellen. Die Abweichung zwischen der im Tierversuch bestimmten Wirksamkeit, und der aus dem *E*-Wert errechneten „Wirksamkeit" sind bei manchen Präparaten so groß, daß sie auch bei Berücksichtigung aller etwaigen Defekte der einzelnen Verfahren deutlich genug in Erscheinung treten. Gerade für diese bei manchen Präparaten sehr wesentlichen Unstimmigkeiten zwischen biologischem Befund und physiko-chemischen Werten fehlte bisher eine befriedigende Erklärung. Die vorliegenden Untersuchungen sollen dazu beitragen die Gründe aufzuklären, warum zwischen den verschiedenen Verfahren zur Bestimmung von Vitamin A häufig keine Übereinstimmung besteht.

III.

Versuchsanordnungen.

1. Messung des Carr-Price-Wertes.

Vitamin A gibt schon in verdünnter Lösung mit Antimontrichlorid eine tiefblaue Farbreaktion.

Im allgemeinen benutzt man den Carr-Price-Wert als Ausdruck für die durch diese Blaureaktion gemessene Vitamin A-Konzentration in einem bestimmten Substrat. (Der Carr-Price-Wert ist eine Konzentrationsangabe, und nicht eine Mengenangabe; er entspricht also in seiner physikalischen Dimension z. B. den Baumé-Graden für die Konzentration einer Schwefelsäure.) Der Carr-Price-Wert wird gemessen dadurch, daß man eine Reihe von Verdünnungen des Vitamin A-

Präparats herstellt und die Konzentration c in g/100 ccm derjenigen Lösung ermittelt, die in 1 cm dicker Küvette 5—10 Sekunden nach dem Mischen mit dem zehnfachen Volumen Reagenslösung in der Farbmessung mit dem Lovibond-Tintometer die Ablesung 10 Blau ergibt. Hieraus wird der

$$\text{Carr-Price-Wert} = \frac{200}{c}$$

berechnet.

Da vom Lovibond-Tintometer verschiedene Konstruktionen (z. B. ohne und mit Graufilter) bestehen, so sind Messungen mit verschiedenen Exemplaren dieses Instruments nicht direkt miteinander vergleichbar. Deshalb ist es vorzuziehen, die Stärke der Farbreaktion mittels des Zeissschen Pulfrich-(Stufen-)Photometers mit dem Spektralfilter S 61 zu messen. Wir nehmen die Reaktion in einer 1 cm dicken Küvette vor, während sich in der Vergleichsküvette Reagenslösung oder Wasser befindet, und lesen die 5—10 Sekunden nach dem Mischen gemessene Lichtdurchlässigkeit am Photometer ab. Um den Anschluß an ältere Blaumessungen zu erhalten, haben wir die Beziehung zwischen beiden Meßmethoden mit einem älteren Lovibond-Tintometer ohne Graufilter ermittelt. Demgemäß betrachten wir die Lovibondmessung 10 Blau als gleichbedeutend mit einer Lichtdurchlässigkeit von 16%.

Beispiel: Wenn unsere Konzentrate in einer bestimmten Verdünnung die Lovibondablesung 10 Blau (an dem älteren Tintometer) ergeben, so ist ihre mit dem Pulfrichphotometer gemessene Lichtdurchlässigkeit 10%. Wenn $c = 0{,}1\%$ ist, dann beträgt ihr Carr-Price-Wert $\frac{200}{0{,}1} = 2000$.

Die Fehlerbreite der Blaumessung ist nicht gering, wegen der rasch verschwindenden Blaufärbung nach Zusatz des Antimontrichloridreagens; wir schätzen sie auf $\pm$ 10%.

2. Messung der Lichtabsorption.

Die Auswertung von Vitamin A-Präparaten mit diesem Verfahren beruht auf dem bei der Wellenlänge 328 mμ gelegenen Maximum des Absorptionsspektrums von reinem Vitamin A.

Nach den üblichen Vorschriften (51) müssen die Vitamin A-Präparate verseift werden, und die Reaktion allein mit dem Unverseifbaren ausgeführt werden. Man verdünnt das Vitamin A-haltige Substrat mit einem optisch leeren Lösungsmittel, z. B. Heptan (destilliert), zu einer Lösung mit der Anzahl g in 100 ccm, und mißt nun die Lichtschwächung einer 1 cm dicken Schicht dieser Lösung bei der Wellenlänge 328 mμ. Am zweckmäßigsten drückt man diese gemessene Lichtschwächung, im ‚spezifischen Extinktionskoeffizienten $E\ \frac{100\ \text{ccm}}{\text{g} \cdot \text{cm}}$ (E = der dekadische Logarithmus der von einer Verdünnung des Präparats 100 ccm/g bewirkten Lichtschwächung, dividiert durch die in cm gemessene Schichtdicke). Gebräuchlich ist zur Feststellung des E-Wertes das Hilgersche Vitameter, oder jedes Photometer mit der Möglichkeit einer Messung der Absorption im Ultravioletten. Die Messung ist bequem und daher sehr beliebt, da E recht genau bestimmt werden kann und infolgedessen eine ebenso genaue „Vitamin A"-Bestimmung vorgetäuscht wird.

3. Messung der Wirksamkeit von Vitamin A im Tierversuch.

Unser biologischer Versuch zur Bestimmung der Wirksamkeit von Vitamin A bestand darin, daß wir bei jugendlichen Ratten durch eine

Vitamin A-freie Kost einen Stillstand im Wachstum erzeugten und nun den Grad der Gewichtszunahme bei Zulage von verschiedenen Dosen Vitamin A ausmaßen.

Da wir in den Jahren, während denen wir den Vitamin A-Rattenversuch laufend durchführen, die Erfahrung gemacht haben, daß gerade die Beobachtung vieler kleiner Einzelheiten für einen erfolgreichen Versuch erforderlich ist, geben wir im Anhang eine genaue Beschreibung der Versuchsanordnung und die dazu gehörige mathematische Auswertung der Ergebnisse.

IV.

Ergebnisse.

1. Die untersuchten Vitamin A-Präparate und die Ergebnisse ihrer Wertbestimmung.

Die Ergebnisse unserer Tierversuche haben wir in Form von Tabellen im Anhang zusammengestellt und die Einzelbefunde auch mathematisch ausgewertet und dadurch gesichert.

Aus unseren Versuchen hatte sich ergeben, daß zwei verschiedene Typen von Konzentraten (*A* und *E*) von Vitamin A ganz verschiedene biologische Wirksamkeit besaßen, obwohl ihre Carr-Price-Werte und ihre spektrophotometrisch gemessenen *E*-Werte ungefähr gleich waren.

Die Konzentrate *A* wurden durch Verseifen von Fischlebern gewonnen und das erhaltene Unverseifbare baldigst mit Erdnußöl verdünnt, so daß die fertigen Präparate das Vitamin A in der chemischen Form des Alkohols „Axerophtol" enthielten. Die Ausgangskonzentrate hatten einen Carr-Price-Wert von etwa 50000, sie enthielten also etwa 1,2—1,5 Millionen internationale Einheiten Vitamin A pro Gramm. Sie stellten eine dunkelbraune, klare, in dünner Schicht rote Masse dar, von honigartiger Konsistenz. Durch Verdünnen mit Erdnußöl wurden aus diesen Konzentraten Lösungen hergestellt mit einem Carr-Price-Wert von etwa 2000. Diese Lösungen wurden nun spektrophotometrisch auf ihren *E*-Wert, chemisch auf ihren Blauwert und biologisch auf ihre Vitamin A-Wirksamkeit geprüft.

Unsere Messungen ergaben im Durchschnitt aus 11 verschiedenen Proben dieser Konzentrate *A*:

Carr-Price-Wert = etwa 2000.

Extinktionskoeffizienten bei 328 mμ: $E = 38{,}6 \frac{100\,\text{ccm}}{\text{g} \cdot \text{cm}}$.

Biologische Wirksamkeit = 70000 i. E. pro Gramm (vgl. Tabelle 6a).

Die Konzentrate *E* wurden aus den Fischlebern ohne jede Verseifung hergestellt, also nur durch Anreicherung des Vitamin A mit Hilfe von Lösungsmitteln. In diesen Konzentraten ist das Vitamin A in der Form von Estern vorhanden.

Nach den Untersuchungen von Hickman, Tischer u. a. (22—26) (zit. nach Hickman) kommt nämlich das Vitamin A in der tierischen

Leber im Nativzustand nicht nur in Form des freien Alkohols, sondern in der weitaus überwiegenden Menge an organische Säuren als Ester gebunden vor. Über die Natur der Säuren, an die das Vitamin A als Ester gebunden ist, ist noch wenig bekannt; sicherlich kommen mehrere Säuren in Betracht, vorzugsweise wohl Fettsäuren, 3 % des Viatmin A sind an Palmitinsäure gebunden.

Unsere Ester-Ausgangskonzentrate hatten einen Carr-Price-Wert von 20000—30000. Sie stellten im Gegensatz zu den Konzentraten *A* ein goldgelbes klares Öl dar. Durch Verdünnen mit Erdnußöl wurden aus den Konzentraten *E* wiederum Lösungen hergestellt mit einem Carr-Price-Wert von etwa 2000. Diese Lösungen wurden nun spektrophotometrisch auf ihren *E*-Wert, chemisch auf ihren Blauwert und auf ihre biologische Wirksamkeit untersucht. Es ergaben unsere Messungen im Durchschnitt aus 8 verschiedenen Proben dieser Konzentrate *E*:

Carr-Price-Wert = etwa 2000.

Extinktionskoeffizienten bei 328 mμ: $E = 39{,}4 \frac{100\,\text{ccm}}{\text{g} \cdot \text{cm}}$.

Biologische Wirksamkeit = 130000 i. E. pro Gramm (vgl. Tabelle 6b).

Aus diesen Ziffern ersieht man, daß die Ergebnisse des biologischen Versuchs und der physikalischen und chemischen Vitamin A-Messungen nicht, wie man bisher annahm, in allen Fällen übereinstimmen, sondern im Gegenteil weit voneinander abweichen können. Die Konzentrate *E* erwiesen sich als beinahe doppelt so wirksam, als nach ihrem Blauwert und ihrem *E*-Wert zu erwarten gewesen wäre. Diese bessere Wirksamkeit der Vitamin A-Esterkonzentrate ist eine rein biologische Erscheinung; denn, wie die Quotienten aus den Blauwerten und den *E*-Werten bei beiden Konzentraten zeigen, enthalten beide Typen der Konzentrate gleich viel Vitamin A, jedoch in chemisch verschiedener Form, nämlich einmal als Vitamin A-Alkohol (Konzentrat *A*), und einmal als Vitamin A-Ester (Konzentrat *E*). Die bessere Wirksamkeit des Ester-Konzentrats beruht wahrscheinlich auf der größeren Stabilität des Vitamin A in der Esterform, die wir in Haltbarkeitsversuchen unter verschieden gewählten Laboratoriumsbedingungen sahen (s. unten).

Trägt man die in der Tabelle (3—5) im Anhang gegebenen Werte in halblogarithmisches Koordinatenpapier ein, und zwar die Werte *M* als Ordinate *y* und die Logarithmen der Dosen *z* als Abszisse *x*, so erhält man das nachstehende Diagramm.

Diagramm 1.

In Abb. 1 sind außer den bei β-Carotin beobachteten Punkten auch die den Regressionsgleichungen entsprechenden Geraden eingezeichnet, wie sie sich bei den Berechnungen aus den einzelnen Werten ergaben.

Die von uns errechneten Regressionsgleichungen sind:

1. Für β-Carotin: $y = 18{,}0\, s + 15{,}08$; Dosis $= S$; $\log S = s$.

2. Für Konzentrate E mit Vitamin A-Estern: $y = 16{,}89\, x - 2{,}37$.

3. Für Konzentrate A mit freiem Vitamin A: $y = 17{,}4\, x - 9{,}72$; $x = \log z$; $z =$ Dosis.

Die geprüften Dosen überdecken einen Bereich vom sechs- bis achtfachen der kleinsten Dosis. Vom internationalen Standardpräparat konnten höhere Dosen als 1,8 γ nicht geprüft werden, da wir mit den Proben dieses Präparats sehr sparsam umgehen mußten.

Die Dosen in den Tabellen bzw. in den Abbildungen bedeuten die Tagesdosis für eine Ratte. Bei den Konzentraten A und E bezeichnet die Angabe in γ jene Gewichtsmenge, die von den Konzentraten mit dem Carr-Price-Wert = 2000 täglich gegeben wurde.

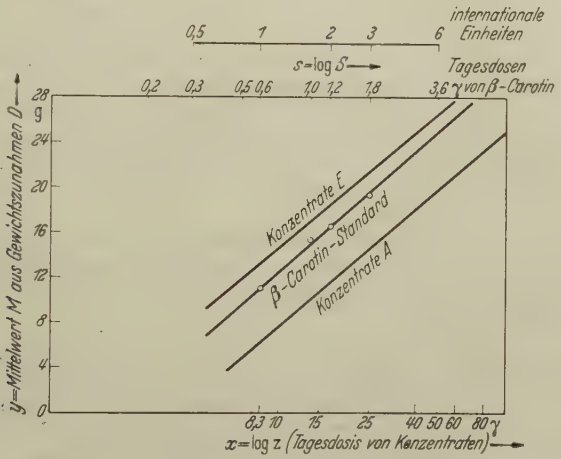


Abb. 1. Ergebnis der biologischen Auswertung der Esterkonzentrate E und Alkoholkonzentrate A von Vitamin A, geprüft im Vergleich mit dem internationalen Standardpräparat β-Carotin. Die lineare Ordinate zeigt die durchschnittliche Gewichtszunahme. Auf der logarithmisch geteilten Abszisse sind die täglichen Dosen aufgetragen. Die untere Teilung der Abszisse trägt die Dosen für die Konzentrate A und E. Hier bezieht sich die Angabe in Gamma auf jene Gewichtsmengen, die von den Konzentraten mit dem Carr-Price-Wert = 2000 täglich gegeben wurden. Die obere Teilung der Abszisse trägt die täglichen Dosen des internationalen Standardpräparats β-Carotin gleichzeitig mit der Teilung in internationalen Einheiten; 0,6 γ von β-Carotin = 1 internationale Einheit. Die obere und die untere Teilung der Abszisse sind so zueinander in Beziehung gesetzt, daß die Werte für 25 γ Konzentrat und 1,8 γ von β-Carotin = 3 internationale Einheiten zusammenfallen. Daraus folgt, daß 1 Million γ = 1 g Konzentrat der Wirksamkeit von 120000 internationalen Einheiten entsprechen müssen. Wenn also auf dem Diagramm die Wirkungskurve eines Konzentrats mit der Wirkungskurve des β-Carotins zusammenfiele, so hätte dieses Konzentrat die Wirksamkeit von 120000 i. E. Vitamin A pro Gramm.

Aus Abb. 1 ersieht man, daß bei gleichem Blauwert die Esterkonzentrate E immer wirksamer sind, als die das freie Vitamin A enthaltenden Konzentrate A.

Die genaue Analyse der Tabelle und Abb. 1 vermittelt aber noch eine Reihe weiterer Ergebnisse:

1. Die Streuung der einzelnen Werte ist bei allen Dosen und bei allen Präparaten dieselbe. Berechnet man unter Berücksichtigung des Gewichts der Beobachtung den Mittelwert σ_m aus den Streuungen $\sigma_1 \ldots \sigma_N$ bei den einzelnen Dosen, so erhält man der Reihe nach folgende Werte:

$$\sigma'_m = 7{,}25 \text{ für } \beta\text{-Carotin; } \sigma''_m = 7{,}60 \text{ für Konzentrat } A \text{ und}$$
$$\sigma'''_m = 8{,}86 \text{ für Konzentrat } E.$$

Man erkennt also keine Abhängigkeit der Streuung von der Zuwachswirkung y; da nun die Zuwachswirkung y mit dem $\log z = x$ ansteigt, die Streuung aber immer dieselbe bleibt, so wird die Streuung, in Prozenten von y ausgedrückt, mit steigendem y immer kleiner, also bei steigenden Dosen relativ immer geringer. Der Vergleich von Präparaten ist also bei den höchsten Dosen am günstigsten, da hier die Werte die relativ kleinste Streuung besitzen. (Berechnung von σ_m im Anhang.)

2. Der Vergleich der Wirksamkeit der beiden Vitamin A-Konzentrate A und E mit dem internationalen Standardpräparat ist bei den Dosen von $25\,\gamma$ durchgeführt worden. Dieses geschah einerseits deswegen, weil gerade diese beiden Dosen bei beiden Präparaten besonders häufig geprüft wurden, so daß also die Befunde ein gewisses Gewicht besitzen; andererseits entspricht diese Dosis in ihrer Wirksamkeit in der Größenordnung etwa $1{,}8\,\gamma$ β-Carotin, das ist die höchste überhaupt geprüfte Dosis des internationalen Standardpräparats; aus den oben im Punkt 1 gegebenen Ausführungen entnimmt man, daß die Streuung bei den höchsten Dosen relativ am geringsten ist. Aus dem Verhältnis jener Dosen der Konzentrate A und E, die gleiche Wirkungen wie $1{,}8\,\gamma$ β-Carotin hervorbringen, erhält man die im vorstehenden gegebenen Wirksamkeitswerte der Konzentrate in internationalen Einheiten pro g.

Daß man aus dem Diagramm zahlenmäßig etwas andere Werte entnimmt als die Mittelwerte der Tabellen 6 liegt daran, daß bei der Berechnung der Regressionsgleichungen für das Diagramm 1 die Zusammenfassung der Werte eine andere ist, als bei der Bildung der Mittelwerte in den Tabellen.

3. Bei der obenerwähnten relativ großen Streuung der einzelnen Vitamin A-Versuche erhebt sich die Frage, in welchem Grade der beobachtete Unterschied in der Wirksamkeit zwischen dem Vitamin A-Esterkonzentrat und dem Konzentrat A mit freiem Vitamin A auch wirklich signifikant im Sinne der Wahrscheinlichkeitsrechnung ist. Wir haben auch diese Frage geprüft, und gefunden, daß $k = 2{,}55$ ist; das bedeutet, daß bei 30 Wiederholungen des Versuchs 29mal der gefundene Wirksamkeitsunterschied auf einer wirklichen Wirkungsdifferenz der Konzentrate A und E beruht, unter der Voraussetzung, daß man sowohl die Konzentrate A wie E an je fünf Gruppen von etwa je 10 Versuchstieren prüft, d. h. also mit insgesamt 100 Tieren. (Einzelheiten der Berechnung von k im Anhang.)

Wir sehen die gefundene Differenz in der Wirksamkeit der Konzentrate A und E als signifikant an.

4. Aus den Tabellen 3 bis 5 entnimmt man auch noch die bei der einzelnen Dosis jeden Präparats durch den Tod vorzeitig ausgeschiedenen Tiere. Bei einem Vergleich der einander entsprechenden Dosen erkennt man wiederum sofort, daß beim Esterkonzentrat E weniger Tiere sterben, als bei dem auf den gleichen Blauwert eingestellten Konzentrat A mit freiem Vitamin A und man erhält somit ein ähnliches Verhältnis der Wirksamkeit der Konzentrate A und E, wie beim Vergleich der Zuwachswirkungen.

Die Messung der Todesrate liefert also auf eine unabhängige Weise eine vollkommene Bestätigung der Ergebnisse des Wachstumsversuchs.

2. Unterschiede in der Löslichkeit zwischen Vitamin A-Alkohol und Vitamin A-Ester.

Die Konzentrate mit Vitamin A-Estern und freiem Vitamin A-Alkohol unterscheiden sich nicht nur in ihrer biologischen Wirksamkeit, sondern auch in ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften voneinander.

Hickman (22) fand, daß in seiner Hochvakuum-Destillationsapparatur (zur sogenannten „Molekulardestillation") das freie Vitamin A bei 125° C, die Vitamin A-Ester bei 215° mit einer bei seiner Versuchsführung optimalen Geschwindigkeit destillieren.

Man kann auch auf chemischem Wege eine Unterscheidung zwischen freiem Vitamin A und Vitamin A-Ester durchführen, und zwar wie Ritsert (13) fand, auf Grund der verschiedenen Löslichkeit der beiden Vitamin A-Formen in organischen hydrotropen Lösungsmitteln, z. B. Methanol.

Schüttelt man eine ölige Lösung eines Konzentrats mit Vitamin A-Alkohol mit der gleichen Menge wasserfreien Methanols durch, so verteilt sich das Vitamin A ziemlich gleichmäßig zwischen Ölphase und Methanolphase. Schüttelt man dagegen eine ölige Lösung eines Konzentrats mit Vitamin A-Ester in gleicher Weise mit demselben Volumen Methanol durch, so nimmt das Methanol nur 3—5 % des Vitamin A auf. Mit Hilfe dieses Verfahrens der elektiven Herauslösung des freien Vitamin A aus einem Konzentrat kann man nun beispielsweise auch das Mengenverhältnis zwischen freiem Vitamin A und Vitamin A-Ester in einem Konzentrat näherungsweise bestimmen. Der Grad der Annäherung an den wahren Wert hängt wie bei allen Ausschüttelungsverfahren von der Zahl der einzelnen Ausschüttelungen ab. Für unsere Ester-Konzentrate haben wir auf diese Weise festgestellt, daß immer mehr als 93 %, meist mehr als 95 % des Vitamin A in der Esterform vorliegt; in unseren Konzentraten *A* mit freiem Vitamin A sind infolge der vollständigen Verseifung keine Vitamin A-Ester mehr nachweisbar.

3. Einfluß der Verseifung auf Blauwert, *E*-Wert und Wirksamkeit bei doppelt geprüften Konzentraten.

Um zu zeigen, daß die im Durchschnitt der geprüften Konzentrate *A* und *E* beobachteten Wirkungsunterschiede tatsächlich auf der verschiedenen chemischen Form des Vitamin A beruhen, haben wir zwei an 112 Tieren ausgewertete Esterkonzentrate nachträglich noch total verseift und das erhaltene Unverseifbare nochmals chemisch, physikalisch und biologisch an 67 Tieren geprüft.

Durch diese Prüfung treten die beobachteten Unterschiede in der Wirksamkeit der verschiedenen chemischen Formen des Vitamin A besonders deutlich in Erscheinung. Auf diese Weise kann auch der Einwand

widerlegt werden, daß in den Esterkonzentraten die Messung des *E*-Wertes oder des Blauwertes durch die Anwesenheit von anderen Stoffen gestört wäre.

Ob in den Esterkonzentraten vielleicht Stoffe vorhanden sind, die die Resorption oder die Ausnutzung des Vitamin A beeinflussen, und die beim nachträglichen Verseifen der Konzentrate vielleicht abgetrennt werden, haben wir im einzelnen noch nicht untersucht. Aber schon bei der Analyse der Wirkungsunterschiede von Vitamin D_2 und Vitamin D_3 fahndete man nach solchen resorptionsfördernden Stoffen in den Leberölen, hat sie jedoch nicht nachweisen können. Da das Vitamin A auch immer aus Leberölen stammt, glauben wir daher, daß man durch Heranziehung solcher hypothetischer Stoffe die Wirkungsunterschiede zwischen Vitamin A-Estern und Axerophtol nicht befriedigend erklären kann.

Tabelle 1. Einfluß der Verseifung auf den Blauwert und *E*-Wert bei Konzentraten.

An hochwertigen Konzentraten mit den nativen *A*-Estern wurde zunächst Blau- und *E*-Wert gemessen; dann wurde eine bestimmte Gewichtsmenge der Präparate verseift und das erhaltene Unverseifbare wiederum auf das Ausgangsgewicht mit Öl aufgefüllt und nun nochmals Blau- und *E*-Wert gemessen.

Präparat und Nummer	Vitamin verestert %	Carr-Price-Wert	*E*-Wert
Vor Verseifen Nr. 14.....	95	1800	31,5
Nach Verseifen Nr. 9a	0	1800	28,0
Vor Verseifen Nr. 28	95	1990	34,0
Nach Verseifen Nr. 29	0	2040	32,0

Arbeitsbeispiel für die letzten beiden Präparate der Tabelle: 10 g Esterkonzentrat mit Carr-Price (C. P.) = 21600 wurden auf 108,0 g mit Erdnußöl aufgefüllt. C. P. (berechnet = ber.) = 2000; C. P. (gefunden = gef.) = 1990. Nach dreimaligem Ausschütteln von je 3 g dieses Öles mit je 7,5 ccm Methanol waren noch 95% des Vitamin A (aus dem C. P.-Wert ber.) in der Ölphase vorhanden.

Aus 10 g dieses Konzentrats wurden durch Verseifen erhalten 3,37 g Unverseifbares mit C. P.-Wert von 60000; nach Auffüllen mit Erdnußöl auf 96,5 g ist C. P. (ber.) = 2000; C. P. (gef.) = 2040.

Diagramm 2 (in Abbildung 2).

Die Abb. 2 zeigt die beiden Wirksamkeitsgeraden für zwei der doppelt geprüften Alkohol- und Esterkonzentrate der vorstehenden Tabelle. Die Geraden wurden gezeichnet nach den aufgestellten Regressionsgleichungen, die aus den Einzelwerten der durchschnittlichen Gewichtszunahmen wiederum berechnet worden waren (vgl. Anhang). Auf eine gleichzeitige Prüfung des internationalen Standardpräparats mußte wegen Materialmangel verzichtet werden; die erhaltenen Befunde sind daher nicht absolut, sondern nur relativ zu werten. Die Geraden sind, da die Versuche zu anderen Zeiten durchgeführt wurden, etwas gegen die Geraden der Abb. 1 verschoben; das Verhältnis der Wirksamkeit der beiden Konzentrate ist aber in Abb. 2 genau das gleiche wie in Abb. 1, und gerade die Feststellung dieses Verhältnisses ist ja das Wesentliche.

Die besondere Beweiskraft dieses Versuchs liegt darin, daß jeweils zwei verschiedene Konzentrate vor und nach der Verseifung völlig gleichzeitig im Tierversuch geprüft wurden.

Die Tabelle 1 zeigt, daß bei der nachträglichen Verseifung der beiden Esterkonzentrate sich Blauwert und *E*-Wert nicht wesentlich geändert haben. Die biologische Wirksamkeit ist dagegen, wie das Diagramm 2 zeigt, bei dem verseiften Konzentrat erheblich geringer als bei dem zugehörigen unverseift gebliebenen *.

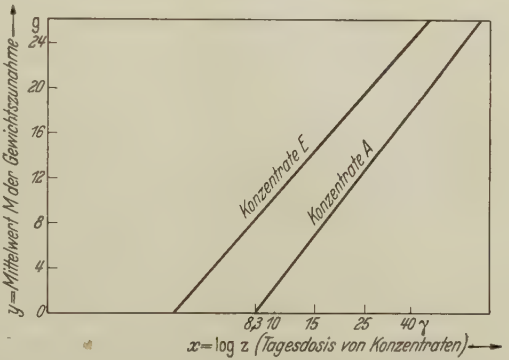


Abb. 2. Die Abb. 2 zeigt die verschiedene biologische Wirksamkeit von je zwei Konzentraten, die zuerst als Esterpräparate und nach der nachträglich vorgenommenen Verseifung nochmals als Vitamin-A-Alkohol-Konzentrate biologisch ausgewertet wurden. Abszisse und Ordinate der Abb. 2 sind genau entsprechend der Abb. 1 gezeichnet.

Wie gerade das obige Arbeitsbeispiel zeigt, konnte die Verseifung fast mit theoretischen Ausbeuten durchgeführt werden; die geringen Verluste an Vitamin A sind bei der schwierigen Abtrennung des Unverseifbaren unvermeidlich. In keinem Falle ist aber der *E*-Wert und der Blauwert in dem verseiften Konzentrat höher als in dem als Ausgangsmaterial dienenden Esterkonzentrat, wie das der Fall hätte sein müssen, wenn störende Stoffe vorhanden gewesen wären. Bei den Esterkonzentraten haben wir natürlich *E*-Wert und Blauwert in unverseifbarem Zustande gemessen, da die Konzentrate ja bereits sehr rein waren und das Absorptionsspektrum unverzerrt war.

4. Einfluß der Verseifung auf die Haltbarkeit der Vitamin A-Konzentrate.

Das Vitamin A ist eine außerordentlich labile Substanz, die gegenüber Luftsauerstoff, insbesondere bei erhöhter Temperatur, überaus empfindlich ist, und sich chemisch und in ihrer Wirksamkeit rasch verändert. Über die Veränderungen des Vitamin A berichten Corbet und Holmes (45), sowie Robinson (38) und Smith (39).

Welchen Einfluß auf die Haltbarkeit des Vitamin A hat es nun, ob es als freier Alkohol oder als nativer Ester in einem Präparat vorliegt?

In der Literatur (22, 26, 39) bestehen schon einzelne Hinweise dafür, daß das Vitamin A in der Form der nativen Ester weniger empfindlich ist gegenüber Luftsauerstoff und Hitze, als in der Form des freien Alkohols.

---

* Anmerkung bei der Korrektur: In letzter Zeit prüften wir auch ein drittes Konzentrat doppelt, das heißt als Esterkonzentrat *E* und als Konzentrat *A* mit freiem Axerophtol; wiederum war, auf Dosen gleichen *E*- und Blauwerts bezogen, das Esterkonzentrat *E* 1,60 mal wirksamer als das Konzentrat *A*.

Bei Aufbewahrung der Konzentrate bei Zimmertemperatur in braunen, fast völlig gefüllten Fläschchen mit paraffiniertem Stopfen zeigte sich während eines Jahres bei beiden Typen der Konzentrate keine wesentliche Abnahme im Blau- und *E*-Wert. Die etwa gefundenen Unterschiede liegen noch im Bereich der Fehlerbreite der Verfahren.

Hält man aber die Konzentrate in offenen Schalen im Dunkeln an der Luft, so gehen *E*- und Blauwert beim Konzentrat mit Vitamin A-Alkohol schon innerhalb 5 Tagen auf die Hälfte zurück, beim Esterkonzentrat dagegen bleiben sie voll erhalten. Beim Aufbewahren im zerstreuten Tageslicht unter Luftzutritt ist unter den gleichen Bedingungen beim Konzentrat *A* der Blauwert schon nach 90 Stunden auf die Hälfte gesunken, beim Esterkonzentrat dagegen in der gleichen Zeit noch unverändert.

Übersicht über die beobachteten Werte gibt die Tabelle 2.

Tabelle 2. Vergleich der Haltbarkeit von Vitamin A in Form von Ester und in Form von freiem Alkohol.

Es wurden je 10 g der Präparate Nr. 28 und 29 in offenen Petri-Schalen mit einer Oberfläche von 28 qcm im diffusen Tageslicht und im Dunkeln an der Luft aufbewahrt. Die Tabelle gibt die Änderung des Carr-Price-(Blau-)Wertes und des *E*-Wertes in Abhängigkeit von der Zeit an, und zwar in absoluten Ziffern und in Prozenten des entsprechenden Ausgangswertes. Die Konzentrate waren in Erdnußöl gelöst, das keinerlei Zusatz enthielt.

Std.	Im Tageslicht				Im Dunkeln							
	Verseiftes Präparat, Blauwert		Esterpräparat, Blauwert		Verseiftes Präparat				Esterpräparat			
					Blauwert		*E*-Wert		Blauwert		*E*-Wert	
	Carr-Price-Wert	% des Ausgangswertes	Carr-Price-Wert	% des Ausgangswertes	Carr-Price-Wert	% des Ausgangswertes	*E*-Wert	% des Ausgangswertes	Carr-Price-Wert	% des Ausgangswertes	*E*-Wert	% des Ausgangswertes
0	2040	100	1990	100	2040	100	34,0	100	1990	100	32,0	100
18	1870	92	2030	102	1910	94			2060	103		
66	1460	72	2040	102	1710	84			2010	101	31,6	99
90	990	49	1990	100	1410	69			2020	101		
114	407	20	1900	95	1110	54	18,0	52	2000	100	33,0	103
137			1780	90	450	22	$< 1{,}70$	< 5	2020	101	30,7	96
185			1560	78					1860	91		
233			690	35					1760	87	$< 1{,}70$	< 5
281									1180	59		

Nach 118 Stunden wurde ein Teil der im Dunkeln aufbewahrten Konzentrate mit hydrochinonhaltigem Erdnußöl verdünnt für die Prüfung im Tierversuch.

Aus der Tabelle ersieht man, daß der Rückgang im Blauwert (und *E*-Wert) bei den Konzentraten mit freiem Vitamin A sofort nach Beginn des Einflusses von Licht und Luft einsetzt, während bei den Konzentraten mit Vitamin A-Ester offenbar die Zerstörung des Vitamin A erst dann beginnt, wenn das Öl ranzig geworden ist.

Wir nehmen an, daß gerade dieses Verhalten der verschiedenen Typen von Vitamin A den Schlüssel liefert zur Erklärung der besseren Wirksamkeit der Vitamin A-Ester im Tierversuch: Die Vitamin A-Ester fallen bei der Aufnahme per os in öliger Lösung in viel geringerem Ausmaß der Zerstörung anheim wie das freie Vitamin A als Alkohol.

5. Einfluß der Verseifung auf die Umrechnungsfaktoren, die für die Vitamin A-Konzentrate gelten müssen.

Unsere Untersuchungen haben gezeigt, daß die Vitamin A-Ester also wirksamer sind als freies Vitamin A; die Umrechnungsfaktoren aus dem *E*-Wert auf die biologische Wirksamkeit sind demgemäß bei den Esterkonzentraten erheblich höher als bei den Konzentraten mit freiem Vitamin A. In der Tabelle 6 im Anhang geben wir zunächst einen Überblick über alle von uns untersuchten Präparate mit den dabei im einzelnen gefundenen Umrechnungsfaktoren, und als Ergänzung dazu eine Zusammenstellung der in der Literatur angegebenen Umrechnungsfaktoren für Lebertran, Konzentrate und kristallisiertes Vitamin A (Tabelle 8 und 9).

Bei der Angabe der biologischen Wirksamkeit jedes einzelnen Präparats verfuhren wir so, daß wir die an jedem Präparat beobachteten Zuwachswirkungen bei mehreren Dosen mit der Wirkung des gleichzeitig geprüften β-Carotinstandardpräparats verglichen haben.

Im einzelnen trugen wir die gefundenen Zuwachswerte jedes Präparats in das Koordinatennetz ein; dann bestimmten wir auf graphischem Wege aus den drei bzw. vier Werten bei verschiedenen Dosen den Schwerpunkt, und zwar unter Berücksichtigung der Zahl der Tiere bei jedem einzelnen Punkt. Durch den so ermittelten Schwerpunkt der zu suchenden Wirkungskurve des Präparats legen wir nun eine Parallele zur Wirksamkeitsgeraden des β-Carotins, die ja dieselbe Neigung hat wie die der Vitamin A-Präparate (s. Abb. 1). Auf dieser Parallelen wird nun jener Abszissenwert gesucht, der die gleiche Ordinatenhöhe hat wie $1{,}8\,\gamma = 3$ i. E. β-Carotin. Dieser Abszissenwert gibt jene Dosis an, die in ihrer Wirksamkeit der von 3 i. E. β-Carotin entspricht.

Die Umrechnungsfaktoren wurden durch Bildung der entsprechenden Quotienten der Tabellenwerte bei jedem Präparat einzeln gewonnen. Sie wurden bei gleichartig hergestellten Präparaten zu Mittelwerten zusammengefaßt, und zwar wiederum unter Berücksichtigung der Zahl der für jede einzelne Beobachtung verwendeten Tiere.

Selbstverständlich geht die Streuung des biologischen Versuchs auch in die Relation zwischen *E*-Wert und biologische Wirksamkeit mit ein, so daß also der Umrechnungsfaktor nur angegeben werden kann mit der im biologischen Versuch ermittelten Streuung.

Bei der Berechnung der Streuung des Umrechnungsfaktors gingen wir so vor, daß wir die mittlere Abweichung aus den Einzelwerten des Umrechnungsfaktors errechneten. Die Streuung der Umrechnungsfaktoren stellt also „den mittleren Fehler des Mittelwertes" dar.

Aus der größeren Wirksamkeit der Vitamin A-Esterkonzentrate im Verhältnis zu ihrem spektrophotometrisch gemessenen *E*-Wert ergibt sich, daß auch die Umrechnungsfaktoren bei den Konzentraten *E* höher sind als bei den Konzentraten *A*.

Im einzelnen ergaben sich im Durchschnitt unserer Versuche als Quotient aus biologischer Wirksamkeit (in internationalen Einheiten pro Gramm) und E-Wert:

Bei Konzentraten mit Vitamin A-Alkohol: 1800 ± 400.

Bei Konzentraten mit nativem Vitamin A-Ester: 3400 ± 600.

Diese Werte sind als Umrechnungsfaktoren für die betreffenden Konzentrate unserer Herstellung anzuwenden.

V.

Besprechung der Ergebnisse.

Das wesentliche Ergebnis unserer Untersuchungen besteht darin, daß Vitamin A-Präparate, die das Vitamin A im nativen, veresterten Zustand enthalten, wirksamer und haltbarer sind, als Präparate mit freiem Vitamin A-Alkohol. Dementsprechend sind auch die Umrechnungsfaktoren aus den Extinktionskoeffizienten E und dem Carr-Price-Wert bei den Konzentraten mit Vitamin A-Ester höher, als bei den Konzentraten mit Vitamin A-Alkohol.

Wir betrachten zunächst den Umrechnungsfaktor aus dem E-Wert in die biologische Wirksamkeit (in internationalen Einheiten pro Gramm) bei Präparaten mit freiem Vitamin A.

Da selbst hochwertige Konzentrate neben Vitamin A immer noch Begleitstoffe enthalten, wodurch die Messung der Lichtabsorption gestört sein kann oder keinen sicheren Rückschluß auf den Gehalt an Vitamin A zuläßt (vgl. Abschnitt II), so legt man wohl am besten für die Berechnung des Umrechnungsfaktors jene Werte zugrunde, die man an reinem kristallisiertem Vitamin A gemessen hat. In der Tabelle 8 im Anhang sind die beobachteten Werte zusammengestellt.

Wie schwierig es aber ist, bei hochwertigen Vitamin A-Präparaten eine allgemein gültige Beziehung zwischen dem Extinktionskoeffizienten und der biologischen Wirksamkeit aufzustellen, zeigen gerade die Messungen an dem mehrfach untersuchten kristallisierten Präparat von Vitamin A von Holmes und Corbet (45).

Der Extinktionskoeffizient dieses Präparats zeigte eine Abhängigkeit vom Alter der hergestellten Lösung; während bei ganz frisch verdünnten Lösungen der E-Wert einer 1%igen Lösung bei 1 cm Schichtdicke für die Wellenlänge 328 mμ = 2100 betrug (entsprechend einem molekularen Extinktionskoeffizienten von 60000), sank dieser hohe Wert im Verlauf von einigen Stunden scharf ab auf einen endgültigen Wert von $E^{1\%}_{1\,cm} = 1600$, wobei sich eine neue Absorptionsbande bei 360 mμ entwickelte.

Die biologische Wirksamkeit dieses kristallisierten Vitamin A-Präparats wurde in zwei verschiedenen Laboratorien geprüft, und zwar stets nach dem Rattenwachstumsversuch; bei der einen Untersuchung wurde das Präparat in acht verschiedenen Verdünnungen an insgesamt 47 Tieren geprüft, und die Wirkung dieser Dosen mit der einmal geprüften Dosis von 1 i. E. des Standardpräparats (an 9 Tieren)

verglichen. Das Präparat wurde danach bezeichnet als: „beträchtlich wirksamer als 2,2 Millionen i. E. pro g und etwas weniger als 3,4 Millionen i. E. pro g". Ein genauerer Wert läßt sich wohl kaum angeben, da ein Vergleich des kristallisierten Vitamin A-Präparats mit dem internationalen Standardpräparat nur bei einer einzigen Dosis durchgeführt wurde. Bei der Prüfung des gleichen Präparats in einem zweiten Laboratorium ergab sich eine Wirksamkeit „von mehr als 2,5 Millionen i. E. pro g", wobei eine Angabe über das Gewicht dieser Beobachtung fehlt.

Die aus diesen Ziffern der biologischen Wirksamkeit und den beiden Extinktionskoeffizienten sich ergebenden Umrechnungsfaktoren liegen zwischen den Werten 1080 und 2125 (vgl. Tabelle 8 im Anhang). Eine Entscheidung zwischen diesen Werten ist schwierig, solange durch neue breit angelegte Versuchsreihen nicht einer von den Werten bestätigt wird. Mead (21) gibt für sein kristallisiertes Vitamin A-Präparat als E-Wert 1820 an (in Äthanol gemessen), der innerhalb 20 bis 30 Minuten nach Herstellung der Lösung beobachtet wurde.

Unter den beobachteten Extinktionskoeffizienten ist fraglos der höchst gemessene Wert von $E = 2100$ der richtigste; da sich aber das empfindliche Vitamin A-Molekül in verdünnten Lösungen rasch verändert, ist wohl in der Praxis meist nur ein etwas niedrigerer Wert des Extinktionskoeffizienten zu messen. Bei den höchst wirksamen Konzentraten, die durch Vakuumdestillation hergestellt worden sind, sind als Extinktionskoeffizienten E an dem Präparat von Carr (61) gemessen worden $E = 1600$, und nach Angaben von Mead (21) an einem anderen Präparat $E = 1950$. Alle Werte zusammengefaßt würden einen Mittelwert für einen Extinktionskoeffizienten des Vitamin A geben, der bei etwa $E^{1\%}_{1\,cm} = 1800$ liegt.

Bei den Angaben über die biologische Wirksamkeit des kristallisierten Vitamin A (aus Vergleichsversuchen mit dem internationalen Standardpräparat) ist es sehr schwierig, einen Mittelwert zu finden, da ausreichende Angaben über den Umfang der Versuche und über die Genauigkeit des erhaltenen Ergebnisses fehlen.

Wenn es schon schwierig ist, aus den bei kristallisiertem Vitamin A gemessenen Werten einen allgemein gültigen Umrechnungsfaktor zu ermitteln, so erscheint dies fast unmöglich, wenn man die in der Literatur vorliegenden Angaben über Umrechnungsfaktoren bei Lebertran und Konzentraten überblickt. Hier schwanken die Werte, wie die Tabelle 9 (im Anhang) zeigt, zwischen 680 und 2380. Ordnet man aber die einzelnen Werte nach der Art der Präparate, so läßt sich bereits erkennen, daß die Lebertrane immer höhere Umrechnungsfaktoren hatten als die Konzentrate. Dieser Befund ist so auffällig, daß er in verschiedenen Aufsätzen über die Auswertung von Vitamin A-Präparaten bereits besprochen wurde.

So diskutierten Morgan und Mitarbeiter (47) bereits die Möglichkeit, daß das Vitamin A bei der Verseifung einen Rückgang in seiner Wirksamkeit erleiden könne, der sich weder in seinem Extinktionskoeffizienten noch in seinem Carr-Price-Wert erkennen läßt.

Andererseits stellte Hume (58) fest, daß, auf gleichen Extinktionskoeffizienten bezogen, ein natürlicher Heilbuttran nur um ein weniges besser wirkte als ein ebenso geprüftes Konzentrat mit freiem Vitamin A, und sie folgert daraus, daß also der Unterschied im Umrechnungsfaktor zwischen freiem Axerophtol und verestertem Vitamin A nicht bedeutend sein könne.

Demgegenüber mußte es immer wieder auffallen, daß aber gerade bei einem veresterten Präparat, wie beim U. S. P. Cod-Liver-Reference-Oil, das besonders häufig untersucht wurde, der Umrechnungsfaktor weit höher lag als bei den meisten Konzentraten.

Auch wir haben das amerikanische Vitamin A-Standardpräparat U. S. P. Cod-Liver-Reference-Oil (Kontroll-Nr. 1-39-A) untersucht und wir fanden, daß es zu 95% aus verestertem Vitamin A besteht. Die genaue Messung der biologischen Wirksamkeit dieses Standardpräparats ist bei uns noch nicht abgeschlossen.

Daß man den so wesentlichen Unterschied in der Wirksamkeit zwischen verestertem und freiem Vitamin A bisher übersehen konnte, ist verwunderlich; wahrscheinlich liegt dies aber daran, daß man die bei den Messungen der Vitamin A-Wirksamkeit und der zugehörigen Extinktionskoeffizienten beobachteten Unstimmigkeiten durch immer wieder neue Beobachtungen wenigstens zum Teil erklären konnte. Im einzelnen ist man dabei zu folgenden interessanten Ergebnissen gekommen:

Nach den systematischen Untersuchungen englischer Laboratorien (47, 48, 49) gibt es nicht nur einen, sondern mehrere Stoffe, die die spezifischen antixerophthalmischen und wachstumsfördernden Wirkungen des Vitamin A besitzen. Von diesen Stoffen hat man den mit Vitamin A_2 bezeichneten bereits näher kennengelernt.

Vitamin A_2 unterscheidet sich von Vitamin A nur dadurch, daß es eine um die Atomgruppierung $-CH=CH-$ längere Seitenkette besitzt, seine ultraviolette Absorption (Maximum bei 350 mμ) ist dagegen von der des Vitamin A verschieden. Auch in der Farbtönung der Blaureaktion mit Antimontrichlorid kann Vitamin A_2 von Vitamin A unterschieden werden.

Außer dem Vitamin A_2 soll noch ein weiterer Stoff mit spezifischer Vitamin A-Wirksamkeit im Lebertran vorkommen, der bei 285 mμ ein Maximum der Lichtabsorption zeigt und sich ebenfalls in der Blaureaktion von Vitamin A unterscheidet.

Endlich wurde auch noch das Vorkommen von cyclisiertem Vitamin A in Fischleberölen beschrieben (48), das nach Embree (63) biologisch unwirksam ist, und ein charakteristisches Ultraviolettabsorptionsspektrum zeigt, in der Carr-Price-Reaktion von Vitamin A selbst aber nicht unterschieden werden kann.

Konzentrate, die Vitamin A und A_2 oder auch noch die anderen eben aufgezählten Stoffe gleichzeitig enthalten, zeigen natürlich eine größere Wirksamkeit, als sich aus dem bei 328 mμ gemessenen Extinktionskoeffizienten entnehmen läßt. Vitamin A_2 kommt in den Leberölen von Süßwasser- und Seefischen vor; in einer Reihe von kürzlich erschienenen Arbeiten (26) wird über die Verteilung von Vitamin A und Vitamin A_2 in der Natur berichtet, und es wird gezeigt, daß die antixerophthalmische Wirkung sich in ganz derselben Weise auf mehrere natürlich vorkommende Stoffe verteilt, wie die antirachitische Wirksamkeit auf mehrere Formen von Vitamin D.

Man könnte nun denken, daß die ganzen Diskrepanzen in der Wirksamkeit zwischen den in ihrem *E*-Wert äquivalenten Vitamin A-Präparaten einfach darauf beruhen, daß sie verschiedenen Gehalt an Vitamin A_2 oder an den anderen wirksamen Stoffen besitzen. Bestimmt man aber die Menge des Vitamin A_2 in solchen Leberölen genauer, so muß man erkennen, daß ihre Menge in keinem Falle ausreicht, um die bestehenden Unstimmigkeiten zwischen *E*-Wert und Wirksamkeit voll zu erklären (48).

Die von uns geprüften Konzentrate enthalten sicher kein Vitamin A_2. Auch für die Anwesenheit der bei 285 mμ absorbierenden Stoffe oder für cyclisiertes Vitamin A haben wir keine Anhaltspunkte.

Der von uns gefundene Wirkungsunterschied zwischen den Konzentraten *A* und *E* kann also nicht auf die Anwesenheit von Vitamin A_2 oder äquivalent wirkenden Stoffe bezogen werden.

Der oben erwähnte Unterschied in der Wirksamkeit der Konzentrate und der unverseift gebliebenen Lebertrane wurde gelegentlich auch noch mit anderen Beobachtungen zu erklären versucht. Man mußte nämlich feststellen, daß das Vitamin A in manchen Konzentraten so rasch zugrunde ging, daß schon während der Dauer des Tierversuchs eine Abnahme in der Wirksamkeit einsetzte (58).

Daß das Vitamin A in Konzentraten von freiem Axerophtol rascher zugrunde geht als in Konzentraten von Vitamin A-Estern, haben auch wir beobachtet (vgl. Tabelle 2).

In erster Linie ist dabei zu denken an eine Zerstörung des Vitamin A durch Bildung von Peroxyden beim Ranzigwerden des Öles, in welchem das Vitamin A gelöst ist, wie das Robinson (38) und Smith (39) gezeigt haben. Dazu kommt noch, daß das freie Vitamin A an seiner alkoholischen OH-Gruppe der Oxydation zu Aldehyd unterliegt, was beim Ester nicht möglich ist. Besonders verhängnisvoll ist es nun, daß eine solche geringe Oxydation gar nicht leicht zu erkennen ist, denn nach Robinson (38) geht die biologische Wirksamkeit des freien Vitamin A bei allmählicher Oxydation rascher zurück als sein *E*- und Blauwert. Berechnet man also bei einem zum Teil verdorbenen Vitamin A-Konzentrat mit freiem Axerophtol aus dem *E*-Wert und der geringen Wirksamkeit den Umrechnungsfaktor, so wird man ihn besonders niedrig finden.

Robinson hält das Vorkommen von teilweise oxydiertem Vitamin A in Konzentraten für die Ursache, daß viele Untersucher so auffallend niedrige Werte für die Umrechnungsfaktoren aus dem *E*-Wert in die biologische Wirksamkeit finden. Wir möchten auf Grund eigener Versuche uns der Meinung von Robinson anschließen.

In unseren Präparaten mit freiem Vitamin A kann die schlechtere Wirksamkeit wohl kaum auf eine solche durch noch unveränderte *E*- und Blauwerte verschleierte Oxydation des Vitamin A bezogen werden; denn wir haben bei allen Konzentraten Licht und Luftsauerstoff mit großer Sorgfalt ausgeschlossen und die Axerophtolkonzentrate immer schon baldigst mit hydrochinonhaltigem Öl verdünnt, das ja die Oxydation hemmt. Auch bei einer Nachuntersuchung erwies sich in unseren Axerophtol-Konzentraten der *E*-Wert noch ebenso hoch wie zu Beginn des Versuchs, während ja bei der mit der Zeit weiter um sich greifenden Oxydation der *E*-Wert bedeutend hätte zurückgehen müssen.

Wir sind also der Auffassung, daß die von uns gefundene bessere biologische Wirksamkeit der ohne jede Verseifung hergestellten Konzentrate von Vitamin A ausschließlich darauf beruht, daß in diesen Präparaten das Vitamin A in Form der nativen Ester vorliegt, die haltbarer und besser wirksam sind als freies Axerophtol.

Oben wurde erwähnt, daß man die Möglichkeit einer besseren Wirksamkeit der Vitamin A-Ester bereits erwogen hatte (47, 58). Versuche

zum direkten Beweis für einen etwaigen Wirkungsunterschied wurden aber zum ersten Male von Bird und Emmet (42) unternommen. Ihre bisher vorliegenden Angaben sind zwar noch nicht sehr aufschlußreich, lassen aber doch schon jetzt erkennen, daß die Vitamin A-Ester, auf gleichen *E*-Wert bezogen, etwa doppelt so wirksam sind wie die Vitamin A-Konzentrate mit freiem Axerophtol. Besonders beweiskräftig ist ihre weitere Angabe, daß freies Vitamin A nach der Wiederveresterung wieder eine höhere Wirksamkeit erlangt, wenn auch der Ausgangswert vor der Verseifung nicht mehr ganz erreicht wurde.

Wir fanden als Umrechnungsfaktor aus dem Extinktionskoeffizienten in die Wirksamkeit bei Konzentraten mit verestertem Vitamin A einen Wert von etwa 3400 ± 600. Eine Ziffer ähnlicher Größenordnung wurde auch schon bei Wolff (51) erwähnt.

Daß rein zahlenmäßig die Umrechnungsfaktoren in unseren Versuchen wesentlich höher liegen als bei Bird und Emmet, kann verschiedene Ursachen haben, unter denen das Ausgangsmaterial und die Art der Herstellung des Vitamin A-Konzentrats die wichtigsten sind. Wir haben das Esterkonzentrat aus Lebern in ganz besonders vorsichtiger Weise gewonnen, nachdem uns die außerordentlich große Empfindlichkeit des Vitamin A geläufig geworden ist. Wir gingen ja, im Gegensatz zu den meisten Untersuchern, nicht von fertigen Leberölen aus, sondern von der unverarbeiteten Leber, so daß also das Vitamin A in unserem Esterkonzentrat gewissermaßen noch in der „nativen Form", wie in der Leber des lebenden Tieres, enthalten ist. Ob diese „native Form" des Vitamin A vielleicht besonders leicht resorbiert wird, ist durch unsere Versuche allein noch nicht zu entscheiden.

Aus letzter Zeit stammen nun Untersuchungen von Mead, Coward und Underhill (21), die die Wirksamkeit von zwei kristallisierten Estern von Vitamin A untersucht haben. Die für den Vitamin A-Anteil des Esters berechneten Extinktionskoeffizienten bei 328 mμ ergaben Werte von 1790 und 1830, die mit den für kristallisiertes Vitamin A praktisch zu findenden Werten gut übereinstimmen. Die biologische Wirksamkeit des Vitamin A in diesen Estern wurde ungewöhnlich hoch gefunden, nämlich zu 3,2 bis 3,4 Millionen internationale Einheiten pro Gramm. Leider fehlt eine Vergleichsprüfung mit kristallisiertem Vitamin A-Alkohol. Vergleicht man aber die von Coward und Underhill gefundene Wirksamkeit des veresterten Vitamin A mit der bisher bekannten von freiem Vitamin A (2 bis 2,8 Millionen internationale Einheiten pro Gramm), so fällt wieder auf, daß die Esterpräparate etwa 1,5 mal so wirksam sind wie die im *E*-Wert äquivalenten Präparate mit freiem Axerophtol.

Ein unmittelbarer Vergleich der Wirksamkeit dieser künstlichen Vitamin A-Ester mit den nativen in der Leber vorkommenden Estern ist aber immer noch nicht möglich, da die Resorption solcher unnatürlichen Ester nicht mit der von natürlich vorkommenden Vitamin A-Estern ohne weiteres gleichgesetzt werden kann. Da aber weder die Verseifung der künstlichen Ester in vivo, noch ihre Resorption verläßlich festzustellen sind, können die Absolutwerte der Umrechnungsfaktoren für Vitamin A-Ester nur an solchen Präparaten ermittelt werden,

die die natürlichen vorkommenden Ester des Vitamins A enthalten, die ja wahrscheinlich ebenso vollständig wie die anderen Fette im Körper resorbiert und ausgenutzt werden. Selbstverständlich ist dabei, daß ein wirklich sicheres Ergebnis nur erwartet werden kann bei der Prüfung von Präparaten, deren Herstellung von Anfang an ausschließlich im Laboratorium überwacht worden ist. Wegen der großen Streuung der Vitamin A-Wachstumsversuche halten wir eine Prüfung unter Verwendung möglichst vieler Tiere für unbedingt erforderlich.

Wenn man endlich die *E*- und Blauwerte miteinander in Beziehung setzt, so findet man bei Konzentraten mit Vitamin A-Ester ungefähr die gleichen Verhältnisziffern wie bei jenen mit freiem Axerophtol, da ja die Verseifung auf diese Werte keinen Einfluß hat. Die an unseren Konzentraten gefundenen Werte stimmen mit denen der Literatur überein.

Daß Vitamin A in der Esterform besser wirksam ist als in der Form des freien Alkohols, ist aber eigentlich nichts Überraschendes. Etwas ganz Entsprechendes hat man auch bei Oestronpräparaten in ihrer Wirkung auf das Uteruswachstum kennengelernt. Hier wurde der Unterschied im Wirkungstypus zwischen Oestron und Oestronestern als so wesentlich empfunden, daß sich die internationale Standardisierungskommission zur Aufstellung eines neuen Standardpräparats für Oestronester entschließen mußte. Bei Vitamin A dürfte aber wahrscheinlich ein neues Präparat für die Esterform nicht erforderlich sein.

Da das β-Carotin als Standardpräparat für Vitamin A gut definiert und in genügendem Grade haltbar ist, ist es als Bezugspräparat vorläufig kaum zu ersetzen. Da Carotin aber nicht vollständig resorbiert und gespalten wird (6, 7), entsprechen 0,6 γ des β-Carotins im Durchschnitt der Wirkung von 0,3 γ reinem Vitamin A.

Dem Unterschied in der Wirksamkeit von freiem Axerophtol und Vitamin A-Ester muß aber dadurch Rechnung getragen werden, daß für die beiden chemischen Formen des Vitamin A verschiedene Umrechnungsfaktoren angewandt werden. Bei der vergleichenden Auswertung von Vitamin A-Präparaten bekannter Herstellung können die *E*- und die Blauwerte allein schon Anhaltspunkte für die biologische Wirksamkeit geben. Hier kann also der für das betreffende Präparat ermittelte Umrechnungsfaktor verwendet werden. Bei Präparaten unbekannter Herstellung ist aber ein sicheres Urteil über die Wirksamkeit der Tierversuche unentbehrlich.

VI. Anhang.

Versuchsanordnung zur Messung der Wirksamkeit von Vitamin A im Tierversuch.

1. Tiere.

Junge, ausschließlich männliche Ratten aus einer großen Tierzucht werden im Gewicht von etwa 35 bis 45 g, d. h. an ihrem 20.—25. Lebenstag, einzeln in luftige Emaillekessel gesetzt und erhalten Vitamin A-armes Futter; sie werden wöchentlich zweimal gewogen.

Im Laufe der nächsten 3 Wochen nehmen die Tiere noch an Gewicht zu, dann kommt es zum Gewichtsstillstand, der als Zeichen für die Erschöpfung der Vitamin A-Vorräte des Tieres anzusehen ist. Haben die Tiere bei drei aufeinanderfolgenden Wägungen, also während 10 Tagen, Gewichtskonstanz oder Gewichtsabnahme gezeigt (= Vorperiode), so werden sie in Versuch genommen, d. h. die Zugabe einer Dosis Vitamin A mit der Pipette beginnt (= Versuchsperiode). Nur solche Tiere werden in den Versuch genommen, deren Körpergewicht nach Ablauf der Vorperiode zwischen 40 und 70 g liegt. Tiere aus dem gleichen Wurf werden gleichmäßig auf die verschiedenen Dosengruppen verteilt. Der Versuch dauert von dem ersten Tag der Zufütterung des Präparats an 35 Tage lang. Für jede einzelne Dosis setzen wir durchschnittlich 12 Tiere.

2. Futter.

Reisstärke 65%, extrahiertes Casein (Vitamin A-frei) 21%, Salzmischung nach Osborne und Mendel 5,5%, Cocosfett 3,5%, Hefe 5,0%, dazu 9,5 ccm einer öligen Lösung von kristallisiertem Vitamin D_2 mit insgesamt 0,02 mg kristallisiertem Vitamin D_2 (vgl. 53).

Substanzen, die auf ihre Vitamin A-Wirksamkeit zu prüfen waren, wurden stets in Erdnußöl gelöst gegeben. Kontrollversuche ohne jede Zulage von Vitamin A, also mit reinem Erdnußöl, zeigten, daß die Tiere alle innerhalb 12—20 Tagen unter schwerer Gewichtsabnahme starben. Das von uns verwandte Erdnußöl enthielt 0,01% Hydrochinon, um die Möglichkeit einer Oxydation der in Öl gelösten Substanzen auszuschließen. Fehlte dieses Hydrochinon, so ging, wie wir mehrfach beobachteten, die Wirksamkeit von Vitamin A-Präparaten rasch zurück.

Die Verdünnung der zu prüfenden Substanz erfolgt durch Wägungen, die wegen der Viskosität des Öles erheblich genauer sind als volumetrische Verdünnungen (1 ccm Öl = 0,92 g). Jedes Tier bekam täglich 0,01 ccm der öligen Lösung mit Pipette ins Maul. Die zu prüfende Substanz wurde für jede Dosis besonders verdünnt, so daß also alle Dosen von Vitamin A in einer Gesamtmenge von 0,01 ccm Öl gelöst waren. Im einzelnen erfolgte die Verdünnung in der Weise, daß die gesamte für den 5 Wochen dauernden Versuch nötige Menge auf fünf kleine vollständig gefüllte Einzelgefäße verteilt wurde. Die öligen Lösungen wurden im Eisschrank bei + 2° aufbewahrt. Für jede Woche wurde ein neues Fläschchen in den Versuch genommen, so daß man stets mit praktisch frischen Lösungen arbeitete.

3. Standard.

Als Standardsubstanz benutzen wir das internationale Standardpräparat, eine 0,03%ige Lösung von reinem β-Carotin in Cocosöl. 2 mg dieser öligen Lösung enthalten 0,6 γ reines β-Carotin und entsprechen der Wirksamkeit von 1 internationalen Einheit. Das internationale Standardpräparat bezogen wir in zwei Lieferungen in besonderen verschiedenen Einzelproben 1935 und 1938. Da die Mengen dieses internationalen Standardpräparats nicht so groß sind, daß man bei jeder Versuchsreihe zur Vitamin A-Auswertung ein Standardpräparat mitlaufen lassen kann, wurde ein sogenannter Hilfsstandard eingeführt, eine Maßnahme, die auch die internationale Vitaminkommission schon vorgesehen hat. Als Hilfsstandard benutzen wir im Bedarfsfalle β-Carotin-Merck, das mit seinen chemischen Konstanten mit den für β-Carotin in der Literatur angegebenen Werten übereinstimmt.

Die der Sendung des internationalen Standardpräparats beigegebenen Anweisungen für den Gebrauch des Präparats wurden genau befolgt.

4. Auswertung von Vitamin A-Präparaten.

Die biologische Auswertung von Vitamin A-Präparaten erfolgt ja heute ausschließlich durch Vergleich des zu prüfenden Präparats mit dem internationalen

Standardpräparat, das in einem ganz genau ebenso durchgeführten Parallelversuch gleichzeitig mit der gleichen Versuchsanordnung auf seine Wirksamkeit geprüft werden muß. An Stelle des internationalen Präparats kann der Hilfsstandard treten, dessen Wirksamkeit, bezogen auf das Standardpräparat, aus vielen Einzelversuchen bekannt sein muß.

Die Bestimmung eines absoluten Grenzwertes der Wirksamkeit (Ermittlung jener kleinsten Menge, die bestimmte biologische Wirkung hervorbringt), wird heute meistens zurückgestellt, zugunsten der Messung der relativen Wirksamkeit des zu prüfenden Präparats gegenüber einem gleichzeitig untersuchten Standardpräparat. Diese Vergleichsmessung schaltet eine grundsätzliche Eigenheit der Tierversuche aus, daß sie nämlich in ihren Ergebnissen periodischen Schwankungen unterworfen sind. Auch wir haben des öfteren beobachtet, daß in manchen Zeitabschnitten die Ergebnisse der Vitamin A-Versuche erheblich von den Werten aus anderen Zeitabschnitten abwichen. Eine Beziehung dieser Abweichungen zur Jahreszeit haben wir aber bisher nicht finden können. Diese Beobachtung zeigt, daß die gleichzeitige Prüfung der beiden zu vergleichenden Präparate eine unabdingliche Forderung darstellt.

Wir verfügen über eine große Anzahl von Einzelbestimmungen der Wirksamkeit des internationalen Standardpräparats zu verschiedenen Jahreszeiten von 1936—1938, um daraus eine Durchschnittskurve der Werte aufstellen zu können.

5. Rechnerische Auswertung.

Als Maß der Wirksamkeit von Vitamin A wurde in jedem Versuch die durchschnittliche Gewichtszunahme D bestimmt, das ist die Summe der Gewichtszunahmen $g_1, g_2, g_3, \ldots, g_n$ aller n Tiere während des 35 Tage dauernden Versuchs, dividiert durch die Zahl n der den ganzen Versuch überlebenden Versuchstiere.

Nach den Untersuchungen von Coward und anderen (5, 18, 19, 40, 52) können die Versuche mit Messung der Zuwachswirkung eines Stoffes sehr wohl ebenso zuverlässig gestaltet werden, wie andere tierexperimentelle Verfahren auch. Notwendig ist nur die peinlich genaue Berücksichtigung aller Vorsichtsmaßnahmen.

Da nach den Angaben von Coward (18, 19) der Gewichtsanstieg der Rattenweibchen schon normalerweise flacher erfolgt, ist das Versuchsergebnis bei Verwendung von Weibchen ungenauer, da die logarithmische Varianz λ doppelt so groß ist als bei Männchen. Wir nahmen daher ausschließlich Männchen.

Als Maß für die Wirksamkeit der Vitamin A-Präparate könnte man an Stelle der durchschnittlichen Gewichtszunahme zwar auch andere Zahlenwerte wählen; wir haben nun alle Möglichkeiten, um zu genauen Maßzahlen der Vitamin A-Wirkung zu kommen, erprobt; in jedem einzelnen Falle wurde die Streuung berechnet, und zwar die sogenannte

$$\text{mittlere Abweichung } \sigma = \pm \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n-1}} \quad \text{(Standarddeviation)*}.$$

Es zeigte sich nun, daß die Streuung bei den Werten für die Durchschnittsgewichtszunahme ein Minimum erreicht. Wir konnten uns also auf die Ermittlung dieser durchschnittlichen Gewichtszunahme D beschränken.

---

* Es ist richtiger von mittlerer Abweichung zu sprechen, als von mittlerem Fehler, da die biologischen Streuungen ja keine Meßfehler sind, sondern nur auf der verschiedenen Empfindlichkeit der einzelnen Tiere beruhen. Die biologische Variation der Empfindlichkeit der Tiere wird nur mathematisch-formal durch die gleichen Formeln dargestellt, wie die Fehlerrechnung.

Die Bestimmung des D-Wertes von einer Versuchsgruppe gilt als eine Beobachtung für eine bestimmte Dosis eines Vitamin A-Präparats. Nun wurden die N verschiedenen Werte D_1, D_2, D_3, . . ., D_N von gleichen Dosen der Vitamin A-Präparate gleicher Art wiederum zusammengefaßt zu einem Mittelwert M, und von diesem Mittelwert wiederum die mittlere Abweichung μ errechnet.

Noch ein Wort zu den während des Versuchs vorzeitig sterbenden Tieren. Wir haben uns nicht entschließen können, die sterbenden Tiere bei der Berechnung von D irgendwie in Rechnung zu stellen, und zwar aus zwei Gründen:

1. Die Berechnung eines Mittelwertes D für eine Versuchsgruppe setzt voraus, daß alle Tiere die gleiche Menge Vitamin A erhalten haben. Dies ist jedoch bei den toten Tieren nicht der Fall, die oft nur die Hälfte, oder sogar nur den dritten Teil der Gesamtdosis bekommen haben, weil sie ja zu früh gestorben sind. (Wir fütterten täglich bis zum Ende des Versuchs.)

2. Die Berechnung des Mittelwertes einer Versuchsgruppe setzt weiterhin voraus, daß die Einzelwerte für den Mittelwert zum gleichen Zeitpunkt abgelesen werden; auch das ist bei den toten Tieren nicht möglich, da ja bei diesen bestenfalls die Gewichtsveränderung am Todestag festgestellt werden könnte und völlig unbekannt ist, wie sich das Gewicht dieser Tiere verändert haben würde, wenn sie bis zum Ende des Versuchs gelebt hätten.

Der einzige Nachteil des Ausscheidens aller vorzeitig gestorbenen Tiere besteht darin, daß für eine Versuchsgruppe von 10 Tieren bei kleinen Vitamin A-Dosen am Ende des Versuchs oft nur 3—4 Tiere für die Berechnung des Mittelwertes übrigbleiben. Diese Mißlichkeit überwindet man aber dadurch, daß man bei kleinen Dosen Vitamin A von Anfang an mit einer Tiergruppe von mehr als 10 Tieren startet. Auf diese Weise ist es gut möglich, die bei kleinen Dosen Vitamin A zu erwartende geringe Gewichtszunahme oder sogar Gewichtsabnahme zu ermitteln, wie wir vielfach beobachteten.

Die Gründe, weswegen ein Tier im Vitamin A-Versuch vorzeitig stirbt, sind im Einzelfall unbekannt; meist liegt eine manifest gewordene Infektion vor, die das Tier infolge seines Mangels an Vitamin A-Reserven nicht mehr übersteht.

Selbstverständlich haben auch wir beobachtet, daß sehr wohl ein Zusammenhang zwischen der Vitamin A-Dosis und der Absterberate der Tiergruppe besteht. Diese Beziehung zwischen Absterberate und Vitamin A-Dosis liefert eine zweite Möglichkeit, die Wirksamkeit von Vitamin A-Präparaten zu bestimmen, die aber mit der Messung der Zuwachswerte von lebenden Tieren nichts zu tun hat.

Aus den vorstehenden Ausführungen entnimmt man, daß wir die durchschnittliche Gewichtszunahme während des 35 Tage dauernden Versuchs als das beste Maß für die Wirkung einer bestimmten Dosis Vitamin A in unsere Berechnungen einsetzten.

Wie oben schon ausgeführt, berechneten auch wir die biologische Streuung bei jeder einzelnen Tiergruppe, die die gleiche Vitamin A-Dosis erhielt, gesondert, und erhielten so die Werte σ_1, σ_2, . . ., σ_N.

Da wir die gleiche Vitamin A-Dosis an mehreren Tiergruppen mehrfach prüften, erhielten wir eine Reihe von Durchschnittswerten $D_1 \ldots D_N$ für eine Reihe aus N Beobachtungen, die wir zu einem Mittelwert M zusammenfaßten, natürlich unter Berücksichtigung des Gewichts der Beobachtungen, wie sie sich aus der Anzahl der einzelnen den ganzen Versuch überlebenden Tiere ergibt (weighted mean).

Zur Berechnung des Mittelwertes M nach dem wirklichen Gewicht der Beobachtung müßten eigentlich die tatsächlich gefundenen Streuungen $\sigma_1 \ldots \sigma_N$ innerhalb der Einzelbeobachtung eingesetzt werden, entsprechend der Formel:

$$M = \frac{\frac{D_1}{\sigma_1^2} + \frac{D_2}{\sigma_2^2} + \frac{D_3}{\sigma_3^2} + \cdots}{\frac{1}{\sigma_1^2} + \frac{1}{\sigma_2^2} + \frac{1}{\sigma_3^2} + \cdots}$$

Zur Vereinfachung der Berechnungen des nach dem Gewicht der Beobachtungen korrigierten Mittelwertes haben wir nun nicht die wirklichen Gewichte, sondern die nach der Wahrscheinlichkeitsrechnung vorauszusehenden Gewichte der Einzelbeobachtungen benutzt, und dementsprechend die Formel angewandt:

$$M = \frac{n_1 \cdot D_1 + n_2 \cdot D_2 + n_3 \cdot D_3 + \cdots}{n_1 + n_2 + n_3 + \cdots}$$

Hatte man so die Mittelwerte M der Gewichtszunahme für die einzelnen Dosen erhalten, so wurden diese in halblogarithmische Koordinaten eingetragen, und man erhielt auf diese Weise das Bild der Abb. 1.

Da die bei einer abgestuften Zugabe von Vitamin A zu beobachtenden Gewichtszunahmen eine „graduierte Reaktion" darstellen, so sollte die Zuwachswirkung y direkt proportional dem Logarithmus der Dosis z ansteigen; Coward, Key, Dyer und Morgan (40) und andere haben Beispiele für eine solche Gesetzmäßigkeit beim Vitamin A-Versuch gegeben; trägt man die gefundenen Mittelwerte M der Zuwachswirkung als Ordinate y und den Logarithmus der Dosis z als Abszisse x im Koordinatennetz ein, so sollten im Idealfall alle Werte auf einer Geraden liegen.

Da aber nun wegen der biologischen Streuung die einzelnen gefundenen Werte M nicht direkt auf einer Geraden liegen, muß diejenige Gerade, die am besten allen Punkten gerecht wird, erst ermittelt werden.

Diese Näherungsgerade muß selbstverständlich dichter an denjenigen Punkten vorbeiziehen, die auf Grund einer größeren Anzahl von Tieren und mit geringerer Streuung ermittelt wurden, als an anderen Punkten, die nur auf Beobachtungen an weniger Tieren beruhen, d. h. also: alle Punkte sind nach dem „Gewicht der Beobachtungen" zu werten. Eine exakte Möglichkeit einer solchen Bewertung liefert die Berechnung der Regressionsgleichung nach Fisher [vgl. dazu Burn (57)], die in der Ausdrucksweise der analytischen Geometrie die Gleichung der „besten Näherungsgeraden" für alle nach dem Gewicht ihrer Beobachtungen korrigierten Punkte darstellt.

Die allgemeine Gleichung heißt:

$$y = \bar{y} + b\,x.$$

$\bar{y}$ = Mittelwerte aller $y_1, y_2, y_3 \ldots$, d. h. also der Werte $M_1, M_2, M_3 \ldots$;
$x = \log z$; z = Dosis von Vitamin A; $s = \log S$; S = Dosis von β-Carotin;
$\bar{x}$ = Mittelwert aller $x_1 \ldots x_n$;
$b = \frac{\Sigma\, y \cdot (x - \bar{x})}{\Sigma\, (x - \bar{x})^2}$.

Diese Regressionsgleichungen haben wir für alle unsere Präparate berechnet, und in Abb. 1 die entsprechende Gerade eingezeichnet.

Nelson und Mitarbeiter (20) schlagen vor, zur Erhöhung der Genauigkeit des biologischen Vitamin A-Versuchs die „völlig abweichend reagierenden Versuchstiere" (Außenseiter) zu identifizieren und auszuscheiden. Nelson (20) hatte eine Standardabweichung σ_m = von $\pm$ 13,9 g. Nach Ausscheidung der Außenseiter

gelang es, σ_m auf $\pm$ 12,0 g herabzudrücken. Coward (18) gibt als Standardabweichung bei 672 weiblichen Ratten $\sigma_m = \pm$ 11,0 g an, bei männlichen Ratten $\sigma_m = 14{,}72$ g, bei 1110 Ratten beiderlei Geschlechts $\sigma_m = \pm$ 11,9 g.

Im Gegensatz dazu beträgt die mittlere Abweichung σ_m (= korrigiert nach dem Gewicht der Beobachtungen) für alle unsere eigenen Versuche: = 7,91 g; sie ist also weit geringer, als die der englischen und amerikanischen Laboratorien; wir hatten also zur Anbringung weiterer Korrekturen an Ergebnissen unserer Vitamin A-Versuche keine Veranlassung. Berechnung von σ_m s. S. 205.

6. Bezeichnungen (zur nochmaligen Übersicht).

1. Werte bei Versuchsreihen.

N = Anzahl der Versuchsreihen,
M = Mittelwert aus $D_1 \ldots D_N$,
μ = mittlere Streuung der Mittelwerte $= \sqrt{\frac{\Sigma m^2}{N-1}}$; $\varepsilon' = \frac{\sigma_m}{\sqrt{n}}$; $\varepsilon'' = \frac{\mu_m}{\sqrt{N}}$,
m = Differenz $M - D_1$, $M - D_2$, $M - D_N$.

2. Werte für Einzelversuche.

n = Anzahl der am Schluß des Versuchs lebenden Tiere einer Einzelbeobachtung,
$g_1 \ldots g_n$ = Gewichtszunahme eines Tieres im Verlauf von 5 Wochen,
D = Durchschnittsgewichtszunahme der Tiere einer Einzelbeobachtung $= \frac{g_1 + g_2 \cdots g_n}{n}$,
$d_1 \ldots d_n$ = Differenz $D - g_1 \ldots D - g_2 \ldots D - g_n$,
Σd^2 = Summe aller $d_1^2 \ldots d_n^2$,
z = Dosis des Vitamin A-Präparats in Gamma,
$x = \log z$,
σ = mittlere Streuung $= \pm \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n-1}}$,
$y = M_1, M_2 \ldots$
y = Mittelwert aus allen Werten y,
$b = \frac{\Sigma n y (x - \bar{x})}{\Sigma n (x - \bar{x})^2}$,
ε = mittlerer Fehler des Mittelwertes $= \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n(n-1)}} = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$,
S = Dosis des β-Carotinstandards,
$s = \log S$.

Wir haben unsere Rechnungen durchgeführt für 19 Auswertungen (11 für Axerophtol- und 8 für Vitamin A-Esterpräparate) in $N = 84$ Versuchsreihen an $n = 664$ Tieren.

Tabelle 3. Beziehung zwischen Dosis von β-Carotinstandard und Gewichtszunahme bei Vitamin A-frei ernährten Ratten.

Nr. des Vitamin A-Versuchs	Hauptversuchszeit Monat/Jahr	Tägliche Dosis S γ	Zahl der Tiere	Zahl der überlebenden Tiere n	Gewichtszunahme in g: Durchschnittswert D mit Streuung σ	Gewichtszunahme in g: Mittelwerte $M \pm \mu$ nach Gewicht der Beobachtungen
2385	XII. 1935	0,3	10	7	1,15 ± 6,9	
2403	XII. 1936	0,3	10	3	9,3 ± 2,0	3,59 ± 5,28
$N = 2$			20	10		
2466	VII. 1936	0,5	10	9	11,9 ± 8,0	
2466	VII. 1936	0,5	10	6	11,1 ± 12,0	11,6 ± 0,56
$N = 2$			20	15		
2385	I. 1936	0,6	10	5	6,0 ± 9,0	
2403	XII. 1936	0,6	10	9	14,4 ± 8,0	
2403	II. 1937	0,6	10	4	2,0 ± 5,6	
2471	VIII. 1938	0,6	10	8	10,5 ± 6,4	
2475	X. 1938	0,6	10	10	15,3 ± 9,3	
2478	I. 1939	0,6	10	5	10,0 ± 5,6	11,09 ± 4,67
$N = 6$			60	41		
2466	VI. 1938	1,0	10	10	15,9 ± 6,1	
2466	VI. 1938	1,0	9	9	14,9 ± 8,2	15,40 ± 0,7
$N = 2$			19	19		
2385	I. 1936	1,2	10	9	9,33 ± 5,9	
2385	II. 1936	1,2	10	9	7,20 ± 5,5	
2403	XII. 1936	1,2	10	8	14,75 ± 5,8	
2403	II. 1937	1,2	10	0	7,9 ± 4,6	
2471	VIII. 1938	1,2	10	0	26,4 ± 6,3	
2471	VIII. 1938	1,2	9	17	15,1 ± 4,5	
2475	XI. 1938	1,2	9	19	29,1 ± 8,6	
2478	I. 1939	1,2	10	9	20,5 ± 9,5	16,36 ± 8,56
$N = 8$			78	71		
2385	I. 1936	1,8	10	10	12,2 ± 5,5	
2403	I. 1937	1,8	10	10	26,7 ± 9,4	19,45 ± 10,2
$N = 2$			20	20		
			217	176		

Tabelle 4. Beziehung zwischen Dosis von Konzentrat *A* mit Vitamin A-Alkohol und Gewichtszunahme bei Vitamin A-frei ernährten Ratten.

Nr. des Vitamin A-Versuchs	Hauptversuchszeit Monat/Jahr	Tägliche Dosis z γ	Zahl der Tiere	Zahl der überlebenden Tiere n	Gewichtszunahme in g: Durchschnittswert D mit Streuung σ	Gewichtszunahme in g: Mittelwerte $M \pm \mu$ nach Gewicht der Beobachtungen
2453	III. 1938	10,0	9	3	12,3 ± 10,5	12,3
$N = 1$						
2444	XII. 1937	12,5	6	1	6,0	6,0
$N = 1$						
2441	XI. 1937	15,0	10	7	17,5 ± 6,5	
2415	X. 1937	15,0	10	10	15,3 ± 4,5	
2418	VII. 1937	15,0	10	7	3,3 ± 7,6	
2450	II. 1938	15,0	6	3	8,6 ± 2,75	
2453	II. 1938	15,0	6	3	5,0 ± 9,1	
2428	IX. 1937	15,0	10	9	12,0 ± 5,2	
2428	VII. 1937	15,0	10	5	8,0 ± 8,5	
2418	VIII. 1938	15,0	10	3	9,6 ± 9,4	11,01 ± 5,1
$N = 8$			72	47		
2393	VII. 1937	20,0	10	10	16,2 ± 9,8	
2389	V. 1936	20,0	10	10	15,8 ± 5,0	
2388	III. 1936	20,0	10	10	3,4 ± 4,8	11,8 ± 7,3
$N = 3$			30	30		
2453	II. 1938	25,0	9	6	22,8 ± 8,1	
2450	II. 1938	25,0	10	7	18,2 ± 9,6	
2441	XI. 1937	25,0	10	10	15,9 ± 13,9	
2444	XII. 1937	25,0	8	6	11,3 ± 13,2	
2411	IV. 1937	25,0	10	5	14,2 ± 3,25	
2411	V. 1937	25,0	10	9	12,0 ± 5,7	
2415	V. 1937	25,0	10	9	14,0 ± 5,5	
2428	VII. 1937	25,0	10	8	13,7 ± 4,6	
2418	VII. 1937	25,0	10	9	10,6 ± 8,6	14,36 ± 3,66
$N = 9$			87	69		
2393	VIII. 1936	40,0	10	10	22,0 ± 4,8	
2428	VII. 1937	40,0	10	10	19,6 ± 7,1	
2388	VI. 1936	40,0	10	10	18,4 ± 8,2	
2411	V. 1936	40,0	9	9	15,8 ± 4,9	
2389	IV. u. V. 1936	40,0	10	10	17,3 ± 8,9	
2418	VII. 1938	40,0	10	7	14,1 ± 5,1	18,11 ± 3,3
$N = 6$			59	56		
2450	III. 1938	50,0	10	10	23,1 ± 7,0	
2415	V. 1937	50,0	9	9	16,7 ± 10,6	
2444	XII. 1937	50,0	8	5	22,4 ± 3,4	20,5 ± 3,66
$N = 3$			27	24		
2388	IV. 1936	60,0	10	10	21,2 ± 5,5	
2389	V. 1936	60,0	10	10	26,1 ± 8,6	
2393	VII. 1936	60,0	10	10	20,2 ± 5,5	22,75 ± 3,2
$N = 3$			30	30		
2388	IV. 1936	80,0	10	10	21,5 ± 4,1	
2389	V. 1936	80,0	10	10	27,1 ± 9,9	
2393	VIII. 1936	80,0	10	10	17,6 ± 10,4	22,16 ± 4,8
$N = 3$			30	30		
			350	290		

Tabelle 5.

Beziehung zwischen Dosis Konzentrat *E* mit Vitamin A-Ester und der Gewichtszunahme bei Vitamin A-frei ernährten Ratten.

Nr. des Vitamin A-Versuchs	Hauptversuchszeit Monat/Jahr	Tägliche Dosis z γ	Zahl der Tiere	Zahl der überlebenden Tiere n	Gewichtszunahme in g: Durchschnittswert D mit Streuung σ	Gewichtszunahme in g: Mittelwerte $M \pm \mu$ nach Gewicht der Beobachtungen
2448	II. 1938	8,3	9	4	10,2 ± 6,6	
2457	III. 1938	8,3	10	2	− 2,0 ± 5,0	
2473	X. 1938	8,3	10	8	11,0 ± 5,4	8,90 ± 3,8
$N = 3$			29	14		
2443	XII. 1937	12,5	8	5	17,8 ± 7,2	
2399	X. 1936	12,5	10	3	13,3 ± 11,4	16,11 ± 3,1
$N = 2$			18	8		
2423	VI. 1937	15,0	9	9	17,4 ± 4,75	
2457	III. 1938	15,0	10	7	17,1 ± 12,4	
2448	I. 1938	15,0	10	7	21,0 ± 3,2	
2474	IX. 1938	15,0	10	10	21,9 ± 7,2	
2473	IX. 1938	15,0	10	9	23,4 ± 9,2	
2477	I. 1939	15,0	10	7	19,8 ± 7,2	20,23 ± 2,54
$N = 6$			59	49		
2399	X. 1936	25,0	10	7	9,3 ± 7,2	
2399	XI. 1936	25,0	10	10	15,0 ± 4,7	
2457	III. 1938	25,0	10	10	18,0 ± 6,3	
2448	I. 1938	25,0	10	9	20,3 ± 12,5	
2423	VI. 1937	25,0	10	10	25,5 ± 14,0	
2474	IX. 1938	25,0	10	9	21,1 ± 6,4	
2443	XII. 1937	25,0	7	6	24,3 ± 9,2	
2473	IX. 1938	25,0	10	10	28,2 ± 8,7	
2477	I. 1939	25,0	10	9	16,2 ± 10,5	19,95 ± 6,05
$N = 9$			87	80		
2399	XII. 1937	37,5	9	9	20,1 ± 10,2	20,1
$N = 1$						
2423	VII. 1937	40,0	10	10	25,1 ± 8,1	
2477	I. 1939	40,0	10	10	33,6 ± 11,2	29,35
$N = 2$			20	20		
2443	XII. 1937	50,0	10	8	24,9 ± 15,1	
2423	X. 1936	50,0	10	10	23,8 ± 6,0	24,3 ± 0,88
$N = 2$			20	18		
			242	198		

Tabelle 6. Liste der gemessenen Werte bei verschiedenen Konzentraten, und der sich aus diesen Werten ergebenden Umrechnungsfaktoren.

a) Eigene Konzentrate *A* mit Vitamin A-Alkohol, durch Verseifen erhalten.

Nr. des Versuchs	*E*-Wert	Biologische Wirksamkeit in internationalen Einh./g	Quotient beider Werte = Umrechnungsfaktor
2388	40,6	42 000	1480
2389	33,6	85 000	2530
2393	33,2	60 000	1700
2411	46,2	70 000	1520
2415	41,3	65 000	1570
2418	42,5	60 000	1410
2428	41,3	70 000	1690
2441	36,0	80 000	2220
2444	26,5	45 000	1700
2450	46,7	85 000	1820
2453	34,4	80 000	2330
Mittelwert:	38,6	69 200	1810

b) Eigene Konzentrate *E*, deren Vitamin A-Gehalt zu mindestens 95% ausverestertem Vitamin A besteht.

Nr. des Versuchs	*E*-Wert	Biologische Wirksamkeit in internationalen Einh./g	Quotient beider Werte = Umrechnungsfaktor
2399	40,0	90 000	2250
2423	32,5	120 000	3680
2443	31,5	120 000	3810
2448	42,1	140 000	3320
2457	42,1	100 000	2380
2473	41,2	160 000	3880
2474	39,8	150 000	3760
2477	46,2	170 000	3680
Mittelwert:	39,4	130 000	3380

Aus den einzelnen Werten der Umrechnungsfaktoren wurden nun nach den üblichen Formeln, unter Berücksichtigung des Gewichts der Beobachtung, die mittleren Abweichungen der Mittelwerte berechnet, und zwar zu 1810 ± 375 oder rund 1800 ± 400 für Konzentrate *A* mit freiem Vitamin A-Alkohol, und zu 3380 ± 605 oder rund 3400 ± 600 für Konzentrate *E* mit Vitamin A-Ester.

Tabelle 7. Vitamin A-Präparate aus dem Handel bezogen, Herstellungsverfahren unbekannt.

Kolonne 1	2	3	4	Umrechnungsfaktoren = Quotient der Kolonnen		
Nummer des Versuchs	Carr-Price-Wert	$E\frac{100\text{ ccm}}{\text{g cm}}$	Biologische Wirksamkeit in internationalen Einheiten/g	4/2	4/3	2/3
Verseifte Präparate:						
2469	2400	49,4	90000	37,5	2020	48,6
2472	160	1,7	1200	7,5	700	
2409	267	7,5	6000	22,5	800	35,5
2409a	4800	123,5	etwa 140000	etwa 29,0	etwa 1130	38,8
2485	4525	7,6	120000	26,5	1580	59,5
Veresterte Präparate:						
2468	2000	40,6	120000	63,0	2950	46,8
2476	1250	32,0	120000	96,0	3750	39,1

Tabelle 8. Extinktionskoeffizient, Carr-Price-Wert, biologische Wirksamkeit und die Quotienten aus diesen Werten.

Verfasser	Literatur-Nr.	Carr-Price-Wert = Blau	E-Wert	Biologische Wirksamk. Millionen i. E./Gramm	I. E. /Blau	I. E./E	Blau/E
a) Bei höchst wirksamen Konzentraten.							
Carr, Jewell	61	80000	1600	2,000	26,0	1250	50,0
Britisch Drug Houses ..	62	80000	1600	2,400	30,0	1500	50,0
Mead	21	86000	1950				44,0
b) Bei kristallisiertem Vitamin A.							
Holmes und Corbet..	45	100000	sofort	$> 2{,}265$	22,6	> 1080	47,7
			2100	$< 3{,}400$	34,0	< 1620	
nach einigen Stunden:			1600	$> 2{,}265$		> 1415	62,5
				$< 3{,}400$		< 2125	
von Verfassern angegebener Mittelwert:			1600	3,000		1870	62,5
Mead	21	92000	1820				50,5
Mead, Coward und Underhill	21	85000	1830	3,181		1740	46,5
		96000	1790	3,424		1910	53,5

8. Berechnung der Regressionsgleichungen und der signifikanten Differenz.

Die Berechnung der Regressionsgleichungen ist nach den vorstehenden Ausführungen und den in den Tabellen gegebenen Einzelwerten leicht verständlich; wir verzichten daher auf eine Wiedergabe der durchgeführten Rechenoperationen. Es sei darauf hingewiesen, daß wir jeden Befund nach dem „Gewicht der Beobachtungen" gewertet haben, d. h. unter Berücksichtigung der Zahl der Tiere, an denen der Wert gewonnen wurde und der zugehörigen Streuung.

Die Berechnung der signifikanten Differenz wird etwas ausführlicher wiedergegeben, da sie sonst kaum verständlich ist. Die Berechnung der signifikanten Differenz geht aus von der Formel:

$$k = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{\varepsilon_1^2 + \varepsilon_2^2}},$$

ε_1 = die mittlere Abweichung des Mittelwertes M_1, ε_2 = die mittlere Abweichung des Mittelwertes M_2.

Nach den grundlegenden Ausführungen von Pütter (59) ist es zweifelhaft, ob im Falle des Vitamin A-Versuchs es berechtigt ist, die mittlere Abweichung ε des Mittelwertes zu berechnen; denn gerade bei den Mittelwerten M handelt es sich ja nicht um eindeutig definierte Größen, sondern um Werte, die, aus den einzelnen Durchschnittswerten D berechnet, ebenfalls eine Streuung μ besitzen.

Wir haben daher zur Berechnung der signifikanten Differenz zwei verschiedene Wege eingeschlagen, die beide den Grad der Signifikanz des Wirkungsunterschiedes zwischen den Konzentraten A und E erkennen lassen.

Im allgemeinen soll $k \geq 2$ sein. Wenn $k = 2$ ist, so ist zu erwarten, daß der gefundene Unterschied $M_1 - M_2$ bei 20 Wiederholungen des Versuchs 19mal größer gefunden wird als die mittlere Abweichung des Mittelwertes ε; es ist also nur einmal unter 20 Malen ein mittlerer Fehler ε zu erwarten von der Größe des Wirkungsunterschiedes, der also nur einmal als solcher nicht erkannt werden kann.

Die Tatsache, daß bei 20 Wiederholungen der Auswertungen 19 mal wirklich die gefundene Differenz auf einem tatsächlichem Wirkungsunterschied beruht, muß als genügender Grad von Signifikanz bezeichnet werden.

Tabelle 9. Umrechnungsfaktoren der Literatur.

Verfasser	Literatur-Nr.	Präparat	Umrechnungsfaktoren aus Biol./Blau	Biol./*E*-Wert	Blau/*E*-Wert
Bird, Emmet	42	Lebertran		2000	
		Konzentrat 1, schwach verseift		1970	
		Konzentrat 2, stärker verseift		1420	
		Konzentrat 3, völlig verseift		905	
		Konzentrat 2, reacetyliert		1950	
Lathbury	46	USP Cod-Liver-Reference-Oil	44	1410	32
		Andere Öle	40 bis 45	1100—1700	
		Konzentrate	20 „ 25	900—1400	
Morgan, Edisbury-Morton	47	USP Cod-Liver-Reference-Oil	42	1800	42
		Heilbutt- u. Thunfischtran	20 bis 21	1100	52
		Konzentrate des Handels	15 „ 16	680—960	44,6
Pritchard	48	Handelskonzentrate aus Dorschtran	17,7	1310	
		Andere Konzentrate	34,0	< 700	
Robinson	38	Konzentrate	21,5	1060	52
		3 Oxydationsstufen von Konzentraten I, II. und III — I	22,5	950	42
		3 Oxydationsstufen von Konzentraten I, II. und III — II	20,5	650	31
		3 Oxydationsstufen von Konzentraten I, II. und III — III	10,0	190	18
Hume, Chick	37	Konzentrat		1300 ± 360	
		Cod-Liver-Reference Oil, Mittel aus Versuchen in 12 Laboratorien, Einzelwerte nicht angegeben		2080	
		Lebertran, Mittel aus Versuchen in 2 Laboratorien		1430	
		Lebertran, Mittel aus Versuchen in 10 Laboratorien		2380	
		Mittelwert der letzten drei Lebertrane, nach Zahl der Einzelversuche gewertet		2150	

Erstes Verfahren.

Zunächst benutzten wir die gleichen Verfahren zur Berechnung von k, wie sie in der Literatur bei Coward (18) angewandt worden sind; dieses Vorgehen hat den Vorteil, daß unsere Werte mit denen in der Literatur verglichen werden können.

Für die obenstehende Formel ist es notwendig, die mittlere Abweichung ε des Mittelwertes zu berechnen. Im ersten Verfahren berechnen wir sie aus der

ganzen Anzahl n aller Tiere und der dazugehörigen mittleren Streuung σ_m. Wir bezeichnen in diesem Falle die mittlere Abweichung mit ε'.

Berechnung von ε'. ε' gilt als Genauigkeitsmaß für den Mittelwert; die Abhängigkeit von der Streuung σ bringt die Formel zum Ausdruck:

$$\varepsilon' = \frac{\sigma_m}{\sqrt{n}}.$$

Da nun der Wert σ bei den Einzelversuchen etwas wechselt, wie ja die Tabellen 3 bis 5 zeigen, haben wir nach einem Vorschlag von Gaddum [zit. bei (18)] einen Wert σ_m berechnet aus der Summe Σ aller d^2 aus allen Versuchen, und zwar nach der Formel:

$$\sigma_m^2 = \frac{\Sigma d^2}{n - N}, \qquad \sigma_m = \pm \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n - N}}.$$

σ_m hat nun die Bedeutung, daß immer 2 von 3 Tieren einen Zuwachswert zeigen, der innerhalb der Grenzen $\pm \sigma_m$ vom Mittelwert an gerechnet liegt. σ_m ist von der Art der geprüften Vitamin A-Präparate und auch von der Größe des Zuwachswertes D in keiner Weise abhängig. n = Anzahl der Ratten in all unseren Versuchen zusammen = 664 (Männchen); N = Anzahl der Versuchsreihen mit etwa je 8 Tieren pro Gruppe am Ende des Versuchs — 84; Σd^2 = aus allen Versuchen zusammen = 36294. Aus allen Werten ergibt sich: $\sigma_m = \pm 7{,}91$.

Wir haben für jede unserer drei Präparattypen die mittlere Streuung σ_m auch einzeln berechnet. Die entsprechenden Werte sind:

bei β-Carotin: $n = 176$; $N = 22$, $\Sigma d^2 = 8095$; daher $\sigma_m' = \pm 7{,}25$

bei Konzentrat A: $n = 290$; $N = 37$, $\Sigma d^2 = 14617$; daher $\sigma_m'' = \pm 7{,}60$

bei Konzentrat E: $n = 198$; $N = 25$, $\Sigma d^2 = 13582$; daher $\sigma_m''' = \pm 8{,}86$

Die Einzelwerte der mittleren Streuung stimmen befriedigend miteinander überein; der etwas höhere Wert bei Konzentrat E erklärt sich durch die etwas geringere Zahl der Tiere und der Versuchsreihen.

Zur Durchführung der Berechnung von k wählen wir die Zuwachswerte bei der Dosis 25 γ der Konzentrate E und A, also $M_1 = 19{,}25$ und $M_2 = 14{,}36$. Setzt man in die obige Formel diese Ziffern und $\sigma_m = \pm 7{,}91$ ein, so errechnet sich $k = 4{,}3$.

Auf Grund unserer Erfahrungen halten wir aber den Vitamin A-Wachstumsversuch für wesentlich ungenauer, als es sich aus der vorstehenden Berechnung ergibt. Wir haben deshalb ε noch auf eine zweite Art berechnet; dabei haben wir jene Werte in Rechnung gestellt, die man bei einer zu beliebiger Zeit angestellten Wiederholung des Vitamin A-Wachstumversuchs erhalten würde. Auf diese Weise bekommt man in Gestalt von ε ein sehr viel verläßlicheres Genauigkeitsmaß des Vitamin A-Versuchs, das den Befunden in der Praxis auch wirklich angemessen ist.

Auf Grund der vorstehenden Überlegungen haben wir daher zur Berechnung der Genauigkeit des Vitamin A-Versuchs noch ein zweites Verfahren angewandt:

Zweites Verfahren.

Eine Auswertung von Vitamin A muß ja in der Praxis stets so durchgeführt werden, daß mehrere Gruppen von Tieren (= Versuchsreihen) mit verschiedenen Dosen des zu prüfenden Präparats behandelt werden, und entsprechend andere

Tiergruppen mit ebenso vielen Dosen des Standardpräparats; man muß daher die durchschnittliche Gewichtszunahme D einer ganzen Gruppe von Versuchstieren als Einzelwert ansehen; da man bei Wiederholung des Versuchs mit der gleichen Dosis immer wieder andere Werte von D erhält, ist zu prüfen, mit welcher Streuung μ diese Einzelwerte D um den Mittelwert M der betreffenden Dosis herumliegen. Zur Berechnung von μ dient wieder die Formel:

$$\mu = \pm \sqrt{\frac{\Sigma m^2}{N-1}}.$$

N = Anzahl der Versuchsreihen bei der betreffenden Dosis.

Da die Anzahl N bei manchen Versuchsreihen klein ist, haben wir eine mittlere Streuung μ_m aus allen Versuchen errechnet, ganz entsprechend wie oben die Größe σ_m berechnet wurde. Selbstverständlich wurde zur Berechnung von μ_m jeder Einzelwert nach dem Gewicht seiner Beobachtung eingesetzt.

Auf diese Weise errechnet sich die mittlere Streuung aus allen $N = 84$ Versuchsreihen zu $\mu_m = 4{,}65$.

μ_m erweist sich wie σ_m von der Art der geprüften Präparate und von der Größe des Zuwachswertes M völlig unabhängig. μ_m kann daher als allgemeine mittlere Streuung der Versuchsreihen angesehen werden.

Aus dem Wert μ_m errechnet sich nun leicht wieder die mittlere Abweichung des Mittelwertes ε, die wir in diesem Falle mit ε'' bezeichnen.

ε'' berechnet sich aus der Formel:

$$\varepsilon'' = \pm \frac{\mu_m}{\sqrt{N}}.$$

Prüft man nun mit dem so erhaltenen Wert von ε'' wiederum, ob die gefundene Differenz $M_1 - M_2$ in der Wirkung der Konzentrate A und E bei der Dosis von 25 γ signifikant ist, so errechnet sich k aus diesen Werten zu $k = 2{,}55$.

Dieser Wert von k bedeutet, daß unter 30 Wiederholungen der ganzen Auswertung 29mal die mittlere Abweichung des Mittelwertes kleiner ist als die gefundene Wirkungsdifferenz; d. h. also, daß unter 30 Fällen 29mal die gefundene Differenz zwischen den Konzentraten A und E auf einem Unterschied in ihrer Wirksamkeit beruht.

Dieser Wert von k errechnet sich daraus, daß für die Konzentrate E der Wert $N = 8$ ist, und für die Konzentrate A der Wert $= 11$ ist.

Die der Größe von k entsprechenden Wahrscheinlichkeitswerte entnimmt man aus den bei Burn (57) abgedruckten Fisherschen Tabellen.

Dieses Ergebnis bedeutet, daß der gefundene Wirkungsunterschied tatsächlich signifikant ist.

Wir halten die Benutzung der Größe μ_m zur Berechnung von ε und damit zur Berechnung der signifikanten Differenz für viel verläßlicher als die Benutzung von σ_m, da es sich ja beim typischen Vitamin A-Versuch nicht um einzelne Tiere handelt, sondern immer nur um Gruppen von Tieren in Form ganzer Versuchsreihen.

Mit Hilfe der Größe μ_m kann man jetzt auch die Frage beantworten, wieviel Einzelversuche man anstellen muß, um zu beweisen, daß der Wirkungsunterschied zwischen zwei Präparaten wirklich signifikant ist, also k mindestens $= 2$ ist.

Zur Durchführung der Rechnung braucht man wiederum die Differenz in der Wirksamkeit von zwei gleich großen Dosen verschiedener Präparate. Für Präparate mit Vitamin A-Estern oder freiem Axerophtol entnimmt man einen mittleren Wirkungsunterschied aus der Abb. 1 (Ordinatenabstand der Kurve für Alkohol

und Ester bei gleichen Abszissen) zu = 6,6. Für $k = 2$ und $\mu_m = 4{,}65$ errechnen sich nun N zu $-$ 4,0. Das heißt also, daß man, um den Wirkungsunterschied zwischen Vitamin A-Alkohol und -Ester sicher zu erfassen, vier Versuchsreihen zu etwa je 10 Tieren mit dem Axerophtolpräparat anstellen muß, und ebenso vier Versuchsreihen mit der gleichen Tierzahl bei entsprechenden Dosen mit dem Vitamin A-Esterpräparat.

Mit Hilfe der Größe μ_m läßt sich auch noch die weitere Frage beantworten, wie groß die Erwartungen sind, daß bei einer Wiederholung einer ganzen Auswertung in der bei uns üblichen Ausführung die erhaltenen Ergebnisse dem „wahren" Wert nahekommen.

Zur Beantwortung dieser Frage muß man aus den Regressionsgleichungen für $y = M \pm \varepsilon$, $y = M \pm 2\,\varepsilon$ und $y = M \pm 2{,}576\,\varepsilon$ die zu diesen Werten y gehörigen Dosen z berechnen. Wir haben dies durchgeführt.

Wir haben, wie aus den Tabellen 3 bis 5 zu entnehmen ist, gewöhnlich bei einer Auswertung drei bis vier verschiedene Dosen eines Präparats in ebenso vielen Versuchsreihen mit je 10 Tieren geprüft. Nehmen wir an, daß im Wiederholungsfall einer Auswertung immer $N = 3$ Versuchsreihen angesetzt werden, so errechnet sich aus der Formel

$$\varepsilon = \pm \frac{\mu_m}{\sqrt{N}} = \pm \frac{4{,}65}{\sqrt{3}} = \pm 2{,}69.$$

Dieses Ergebnis bedeutet, daß bei Ausführung von drei Auswertungen (mit je drei Versuchsreihen zu je 10 Tieren) die Ergebnisse von zweien dieser Auswertungen größer als 70% und kleiner als 143% des „wahren" Wertes sind.

Aus demselben Wert von $\varepsilon = \pm 2{,}69$ errechnet sich auch, daß bei Ausführung von 22 Auswertungen die gefundenen Ergebnisse in 21 Fällen größer als 49% und kleiner als 204% des „wahren" Wertes sind.

Wenn man endlich $M \pm 2{,}575\,82\,\varepsilon$ einsetzt, so erhält man die Wahrscheinlichkeitsgrenze für 100 Auswertungen; für $\varepsilon = \pm 2{,}69$ errechnet sich, daß bei 100 Wiederholungen der ganzen Auswertung die gefundenen Ergebnisse in 99 Fällen größer als 40% und kleiner als 250% des „wahren" Ergebnisses sind. Dieser Wert stellt ein Genauigkeitsmaß für den Vitamin A-Versuch dar für $P = 0{,}99$. Die britische Pharmakopoe (16) gibt für denselben Wert P die Grenzen an $> 37\%$ und $< 272\%$. Die Übereinstimmung unserer Ergebnisse mit dieser Angabe ist befriedigend.

Die drei nach den Regressionsgleichungen gezeichneten Geraden in Abb. 1 haben alle ungefähr dieselbe Neigung. Der algebraische Ausdruck dieser Neigung ist der Koeffizient b in der Regressionsgleichung. Bildet man aus den drei verschiedenen Koeffizienten der drei Gleichungen der Abb. 1 den Mittelwert, so erhält man $b = 17{,}4$.

Aus diesem Wert $b = 17{,}4$ und der mittleren Streuung σ_m errechnen sich auch gleich die folgenden Werte:

μ_m/b = mittlere Abweichung des Logarithmus des Ergebnisses $= \pm \lambda$,
λ^2 = logarithmische Varianz und
σ^2 = mittlere Varianz des Ergebnisses.

VII. Schlußfolgerungen.

1. Die Wirksamkeit von Vitamin A-Präparaten wird gemessen in internationalen Einheiten, die im allgemeinen durch einen biologischen Vergleichsversuch mit dem internationalen Standardpräparat β-Carotin ermittelt werden muß. Zur Erleichterung der Auswertung von

Vitamin A-Präparaten war vorgeschlagen worden, nur den Extinktionskoeffizienten E bei der Wellenlänge von 328 mμ zu messen, und aus diesem Wert durch Multiplikation mit dem Faktor 1600 die Wirksamkeit des betreffenden Präparats (in internationalen Einheiten pro Gramm) zu errechnen.

Es wurde nun in unseren Versuchen gefunden, daß die im biologischen Versuch tatsächlich ermittelte Wirksamkeit von Vitamin A-Präparaten nicht immer übereinstimmt mit der aus dem spektrophotometrisch gemessenem E-Wert (mit dem Faktor 1600) errechneten „Wirksamkeit". Dieser Umrechnungsfaktor 1600 ist also nicht für alle Fälle gültig.

2. Die Unstimmigkeiten zwischen der biologisch gemessenen Wirksamkeit und dem aus dem Extinktionskoeffizienten errechneten Wirkungswert kommen besonders eindrucksvoll zur Geltung, wenn durch Anstellung breiter Versuchsreihen und mathematischer Analyse der Ergebnisse die Streuung des Tierversuchs in allen Einzelheiten berücksichtigt wird.

3. In unseren Versuchen fanden wir nun, daß die Abweichung zwischen dem aus dem E-Wert errechneten und der wirklich im Tierversuch gemessenen Wirksamkeit von Vitamin A auf einem unterschiedlichen Wirkungstypus der beiden chemischen Formen des Vitamin A beruht; Vitamin A kann nämlich als freier Alkohol oder als Ester vorliegen.

Vitamin A-Konzentrate, die nicht durch Verseifen hergestellt wurden, enthalten das Vitamin A in der Esterform, also gewissermaßen in der nativen Form, da das Vitamin A auch in der Leber fast ausschließlich in der veresterten Form vorliegt.

Vitamin A-Konzentrate, die durch Verseifen von Fischleberölen gewonnen sind, enthalten das Vitamin A in der Form des Alkohols Axerophtol.

4. Die nativen Vitamin A-Ester sind, auf gleichen E-Wert bezogen, besser wirksam als Vitamin A-Alkohol aus Konzentraten, die durch Verseifung von Fischleberölen dargestellt wurden.

Vitamin A als Ester ist in öliger Lösung besser haltbar als freies Vitamin A. Die spektrophotometrisch gemessenen E-Werte und die bei der Carr-Price-Reaktion erhaltenen Blauwerte nehmen unter dem Einfluß von Luftsauerstoff und Licht beim Vitamin A-Ester wenig oder kaum ab, während in der gleichen Zeit bei Konzentraten mit freiem Vitamin A-Blauwert und E-Wert bereits auf die Hälfte der Ausgangsziffern abgesunken sind. Wahrscheinlich beruht auch die bessere biologische Wirksamkeit der Vitamin A-Ester auf einer günstigeren Ausnutzung des Vitamin A im Körper infolge seiner geringeren Zerstörbarkeit.

5. Berechnet man aus unseren Versuchen den Faktor, mit dem der spektrophotometrisch gemessene E-Wert zu multiplizieren ist, um daraus die biologische Wirksamkeit in internationalen Einheiten pro Gramm zu

erhalten, so findet man einen Wert von etwa 3400, der also etwa doppelt so hoch ist, wie der früher allgemein benutzte Wert von 1600.

Man kann also nicht generell von nur einem Umrechnungsfaktor bei den Vitamin A-Präparaten sprechen, sondern es muß mehrere Umrechnungsfaktoren geben, die dem verschiedenen Wirkungstypus der beiden chemischen Formen des Vitamin A angepaßt sind. Ausgangsmaterial, Herstellung und Behandlung der Vitamin A-Konzentrate sind für ihre Wirksamkeit und damit für den Umrechnungsfaktor von ausschlaggebender Bedeutung.

6. Da alle Umrechnungsfaktoren auf einer Vergleichsprüfung ein und desselben Präparats im Spektrophotometer und im biologischen Versuch gewonnen sind, sind sie mit der Streuungsbreite des Tierversuchs behaftet; sie müssen also eigentlich angegeben werden mit ihrem mittleren Fehler, z. B. also für den Umrechnungsfaktor aus freiem Vitamin A = 1800 ± 400, oder für ein verestertes Vitamin A-Präparat 3400 ± 600.

7. Die Umrechnungsfaktoren, die in besonderen Versuchen für ein bestimmtes Präparat ermittelt wurden, dürfen für andere Präparate nur dann benutzt werden, wenn Herkunft und Herstellung mit dem Bezugspräparat übereinstimmen; sie können also nicht für ein Präparat unbekannter Vorgeschichte ohne weiteres zur Ermittlung der „Wirksamkeit" Verwendung finden.

8. Das Vitamin A-Präparat „Vogan" ist ohne jede Verseifung aus hochwertigen Fischleberölen hergestellt, und enthält daher das Vitamin A in Form der nativen Ester. Die Messung seiner biologischen Wirksamkeit durch Vergleich mit dem internationalen Standardpräparat ergab den Wert von 120000 ± 20000 internationalen Einheiten pro Gramm. Da Vogan das Vitamin A als Ester enthält, so ist nach dem Vorstehenden gerade für dieses Präparat der Umrechnungsfaktor 3400 ± 600 anzuwenden (14). Bezüglich Haltbarkeit des Vitamin A im Vogan gelten die oben gegebenen Ausführungen über die größere Stabilität der Vitamin A-Ester gegenüber dem freien Axerophtol.

Literatur.

1a) Karrer, Morf, Schöpp: Helv. chim. Act. **14**, 1033, 1036, 1431 (1931); **16**, 557, 625 (1933); Heilbron, Morton, Webster: Biochem. J. (Brit.) **26**, 1194 (1932). — 1b) Kuhn u. Morris: Ber. dtsch. chem. Ges. **70**, 853 (1937). — 2) Bessey u. Wolbach: J. americ. med. Assoc. **110**, 2072 (1938); Munsell: Ebenda **111**, 245 (1938; Clausen: Ebenda **111**, 144 (1938). — 3a) Report of the permanent Commission on biological Standardisation, Genf, 1931, League of Nations, Health Organisation, S. 68 ff. — 3b) Quarterly Bulletin of the Health Organisation, League of Nations, Vol. III, Nr. 3, Genf, September 1934, S. 428ff. — 4) Sherman u. Munsell: J. Amer. Chem. Soc. **47**, 1639 (1925). — 5) Steenbock, Coward: J. biol. Chem. (Am.) **72**, 765 (1927). — 6) Moore: Biochem. J. (Brit.) **24**, 692 (1930); Lancet **1929**, II, 380; Biochem. J. **25**, 275 (1931). — 7) Editorial, J. americ. med. Assoc. **109**, 1045 (1937); De, Indian J. med. Res. (Am.) **24**, 751 (1937). — 8) Morton u. Heilbron: Biochem. J. (Brit.) **22**, 987 (1928). — 9) Morton u. Heilbron, Thompson: Ebenda **25**, 20 (1931). — 10) Coward, Dyer, Morton, Gaddum:

Ebenda **25**, 1102 (1931). — 11) Coward, Dyer, Morton: Ebenda **26**, 1593 (1932). — 12) Carr u. Price: Ebenda **20**, 497 (1926); Rosenheim u. Schuster: Ebenda **21**, 1329 (1927). — 13) Ritsert: Mercks Jahresbericht **1935**, S. 19. — 14) Grab u. Moll: Klin. Wschr., Nr. 16, S. 563ff., vom 22. April 1939. — 15) Moll u. Reid: Z. physiol. Chem. **260**, 9 (1939). — 16) Pharmacopoea Britannica 1932, Addend. 1936, S. 86ff., insbesondere S. 90. — 17) Sherman u. Burtis: J. biol. Chem. (Am.) **78**, 671 (1928). — 18) Coward: Biochem. J. (Brit.) **26**, 691 (1932). — 19) Coward: Ebenda **27**, 445 (1933). — 20) Swanson, Stevenson, Nelson: J. Nutrit. (Am.) **15**, 103 (1938). — 21) Coward, Mead u. Underhill: Chem. and Ind. **57**, 1189 (1938); Biochem. J. (Brit.) **33**, 589 (1939). — 22) Hickman: Industry and Engineering Chemistry **29**, 1107 (1937). — 23) Reti: C. r. Soc. Biol. **120**, 577 (1935). — 24) Hamano: Scientific Papers of the Institute of Physik. and Chem. Research **28**, 69 (1935); **32**, 44 (1937); **26**, 87 (1935). — 25) Tischer: J. biol. Chem. (Am.) **125**, 475 (1938). — 26) Lovern, Morton, Ireland, Mead: Biochem. J. (Brit.) **33**, 325, 338 (1939). — 27) Mc Walter: Ebenda **28**, 472 (1934). — 28) Nijveld: Chem. Weekblad **34**, 379 (1937); Ref. Chem. Abstracts **31**, 7461. — 29) Chevallier u. Mitarbeiter: C. r. l'académie des sciences **194**, 174, 452 (1932); C. r. Soc. Biol. **115**, 1297 (1934); **118**, 159 (1935); **117**, 10 (1934). — 30) Heilbron, Heslop, Morton, Rea, Drummond, Webster: Biochem. J. (Brit.) **26**, 1182 (1932). — 31) Corbet, Geisinger, Holmes: J. biol. Chem. (Am.) **100**, 657 (1933). — 32) Emmerie: Nature **131**, 364 (1933); **128**, 495 (1931). — 33) Rygh: Bull. Soc. Chim. biol. (Fr.) **16**, 609 (1934). — 34) Smith u. Hazley: Biochem. J. (Brit.) **24**, 1942 (1930). — 35) Gillam u. Morton: Ebenda **25**, 1346 (1931). — 36) Notevarp u. Weedon: Ebenda **32**, 1668 (1938). — 37) Hume u. Chick: Die Bestimmung von Vitamin A, His Majesty's stationary office. London 1935. — 38) Robinson: Biochem. J. (Brit.) **32**, 807 (1938). — 39) Smith, Robinson, Stern, Young: Ebenda **33**, 207 (1939); **33**, 201 (1939). — 40) Coward, Dyer, Key, Morgan: Ebenda **28**, 875 (1934). — 41) Andersen: Klin. Wschr. **1939**, S. 499. — 42) Bird u. Emmet: J. biol. Chem. (Am.) **119**, Proc. Am. soc. Biol. chem. S. 31 (1937). — 43) Ritsert: DRP. Nr. 636277. — 44) Hume: Nature **143**, Nr. 3610, S. 22, vom 7. Januar 1939. — 45) Holmes u. Corbet: J. Amer. Chem. Soc. **59**, 2042 (1937). — 46) Lathbury: Biochem. J. (Brit.) **28**, 2254 (1934). — 47) Morgan, Edisbury, Morton: Ebenda **29**, 1645 (1935). — 48) Pritchard, Wilkinson, Edisbury, Morton: Ebenda **31**, 258 (1937); Chem. and Ind. **1936**, S. 1030. — 49) Gillam, Heilbron, Jones, Lederer: Biochem. J. (Brit.) **32**, 405 (1938). — 50) Berichte des Medical Research Council **1936**, S. 93ff.; **1937**, S. 63ff., 109ff.; **1938**, S. 102. — 51) Wolff: Z. Vitaminforschg. **7**, 227, 229ff. (1938). — 52) Coward, Key, Dyer, Morgan: Biochem. J. (Brit.) **24**, 1952 (1930). — 53) Moll, Dalmer, v. Dobeneck, Domagk, Laquer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **170**, 176 (1933). — 54) Nelson u. Jones: J. biol. Chem. (Am.) **80**, 215 (1928). — 55) Hume u. Smith: Biochem. J. (Brit.) **22**, 504 (1928). — 56) Gillam u. El Ridi: Ebenda **32**, 820 (1938); Smith, Stern, Young: Nature **141**, 551 (1938). — 57) Burn: Biologische Auswertungsmethoden. Berlin, Verlag Julius Springer, 1937. — 58) Hume: Nature **139**, 467 (1937). — 59) Pütter: Die Auswertung zahlenmäßiger Beobachtungen in der Biologie, S. 15ff. Leipzig, Verlag De Gruyter, 1929. — 60) Wagner: Biochem. Z. **296**, 193 (1938). — 61) Carr u. Jewell: Nature **131**, 92 (1933). — 62) British Drug Houses Ltd., Chem. and Ind., Suppl., Bd. **8**, vom 13. Februar 1937. — 63) Embree: J. biol. Chem. (Am.) **128**, 187 (1939).

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Leipzig.
(Direktor: Prof. Dr. M. Gildemeister.)

Der Einfluß des Chloroforms auf die Rhodanpermeabilität der Froschhaut.

Von

H. Gerstner.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. Juni 1939.)

Untersuchungen an den verschiedensten lebenden Membranen, Pflanzenzellen, roten Blutkörperchen und Muskelschichten haben zu dem Ergebnis geführt, daß Narkotica in mittleren Konzentrationen deren Durchlässigkeit für Elektrolyte reversibel hemmen, in hohen Konzentrationen irreversibel steigern. Widerstandsmessungen (Osterhout[1]) und Widerstands-Kapazitätsbestimmungen (Gildemeister und Schüler[2]) an der überlebenden Froschhaut lassen vermuten, daß hier die gleiche Gesetzmäßigkeit gilt. Ein direkter Beweis für die Richtigkeit dieser Auffassung, durch quantitative Bestimmung der durchgetretenen Salzmenge, ist unseres Wissens an der Froschhaut noch nicht erbracht worden. Für eine kritische Beurteilung der Leistungsfähigkeit der elektrischen Meßverfahren sind aber derartige Parallelversuche wichtig. Wir haben deshalb an der Froschhaut zunächst geprüft, wie der Durchtritt des Rhodanions von verschiedenen Chloroformkonzentrationen beeinflußt wird. Wir wählten gerade dieses Ion, weil es zu den rasch diffundierenden gehört und weil es auch in kleinen Mengen verhältnismäßig leicht quantitativ erfaßbar ist.

Methodik.

Die Versuche wurden im Sommer 1938 an Eskulenten durchgeführt. Aus der Rücken-, Bauch- und Oberschenkelhaut eines Tieres wurden je zwei geeignete Stücke herausgeschnitten und auf Glasröhrchen von 7 cm Länge und 8 mm innerem Durchmesser aufgebunden, so daß sich eine Membranfläche von 0,5 qcm ergab. Darauf füllten wir diese Zylinder mit 2 ccm Ringer und setzten sie in 50 ccm einer $^1/_{10}$ n Natriumrhodanidlösung. Das Natriumsalz wurde gewählt, um den störenden Einfluß hoher Kaliummengen zu vermeiden. Als Außenlösung nahmen wir 50 ccm, damit die Verluste durch die Permeation praktisch die Menge nicht ändern, wodurch ein konstantes Konzentrationsgefälle gewahrt bleibt, außerdem wurde die Innenlösung langsam gerührt.

---

[1] Osterhout, W. J. V.: Injury, recovery, and death, in relation to conductivity and permeability. Philadelphia u. London, Lippincott 1922. — [2] Gildemeister, M.: Hdb. norm. u. path. Physiol. **8**, 657ff.

Die Haut wurde stets mit der Außenseite nach außen aufgebunden, die Rhodandurchlässigkeit also von außen nach innen untersucht. Auf die Frage der „irreziproken Permeabilität" wurde hier nicht eingegangen.

Den 2-ccm-Ringer, die sich an der Innenfläche der Haut befanden, setzten wir nun zwei Tropfen einer Lösung aus 100 Teilen Wasser, 5 g Ferrichlorid und zwei Tropfen Eisessig zu. Diese Menge genügt, wie zahlreiche Vorversuche zeigten, um die durchtretenden Rhodanionen quantitativ zu erfassen, ohne selbst einen merklichen Einfluß auf die Permeabilität auszuüben. Bei Versuchsdauern über 2 Stunden erwies es sich als zweckmäßig, erneut zwei Tropfen der Ferrichloridlösung zuzugeben, da anscheinend ein Teil dieser Substanz langsam aus der Lösung verschwand. Es tritt nun folgender Vorgang ein: Die Rhodanionen wandern langsam durch die Hautmembran, und bei ihrem Übertritt in die Innenlösung werden sie durch die Färbung leicht nachweisbar. Wir stellten uns Vergleichslösungen in den entsprechenden Konzentrationen her und konnten nun kolorimetrisch die durchgetretene Rhodanmenge bestimmen.

Ergebnisse.

I. Untersuchungen an der nichtchloroformierten Haut.

Nimmt man zunächst als Maß für die Durchlässigkeit die Zeit, die von Beginn des Versuchs an vergeht, bis eine bestimmte Rhodanmenge übergetreten ist, so ergeben sich große individuelle Schwankungen. Als Beispiel sei eine Versuchsreihe an der Bauchhaut von 18 Tieren bei 18° C gewählt. Hier vergingen im Mittel $3^1/_2$ Stunden, bis in der Innenlösung 0,36 mg CNS' (0,5 mg $NaCNS$) nachweisbar waren. Beim durchlässigsten Präparat war diese Menge bereits nach 2 Stunden, 15 Minuten übergetreten, während bei dem dichtesten 5 Stunden notwendig waren, d. h. die Extreme unterscheiden sich ungefähr um den Faktor 2. Für diese starke Streuung konnten wir keine sichere Erklärung finden. Die Temperatur wurde innerhalb der Versuchsreihe so konstant gehalten, daß sie dafür nicht in Frage kommt. Weder zum Gewicht noch zum Geschlecht des Tieres ergaben sich deutliche Beziehungen. Dagegen schien der Allgemeinzustand von Einfluß zu sein. Frisch gefangene, lebhafte Tiere zeigten meist eine geringere Durchlässigkeit als bereits länger aufbewahrte.

Eine solche starke Streuung wurde auch bei anderen Untersuchungen gesehen. So liegen die Werte für die Cl-Durchlässigkeit der Froschhaut, die Gellhorn[3] in vier Versuchen nach 30 Minuten bei 20° C fand, zwischen 0,51 und 1,07 (angegeben in ccm n/10 $AgNO_3$), d. h. sie unterscheiden sich ebenfalls um den Faktor 2. Auch die Wertheimerschen[4] Cl-Bestimmungen zeigen recht erhebliche individuelle Differenzen.

Am gleichen Tier haben Bauch- und Oberschenkelhaut ungefähr die gleiche Durchlässigkeit, die der Rückenhaut ist gewöhnlich um ein Drittel kleiner. Wahrscheinlich spielt hier die größere Dicke und der verschiedene anatomische Bau eine Rolle.

---

[3] Gellhorn, E. u. H.: Pflügers Arch. **221**, 264 (1929). — [4] Wertheimer, E.: Ebenda **200**, 82 (1923).

Uns interessierte nun weiterhin die Frage, wie die durchgetretene Rhodanmenge von der Zeit abhängt. Dazu kolorimetrierten wir während 3 Stunden in Abständen von 15 Minuten die Innenflüssigkeit gegen unsere Vergleichslösungen. An 60 Hautpräparaten wurde dann für jede Meßzeit das arithmetische Mittel bestimmt. Das Ergebnis zeigt Abb. 1. Auf der Abszissenachse ist die Zeit in Stunden, auf der Ordinatenachse sind die Mittelwerte der gefundenen Rhodanmengen in mg CNS′ abgetragen. Man erkennt, daß innerhalb der ersten $^3/_4$ Stunden nach Versuchsbeginn mit unserer Anordnung noch kein Rhodan in der Innenflüssigkeit nachweisbar ist. Nach dieser Zeit erscheinen nur kleine Mengen, die aber immer rascher zunehmen. Die Steilheit der Kurve wächst, und schließlich nähert sie sich aus ihrem anfangs gekrümmten Verlauf langsam einer Geraden. Für die dargestellte Kurve ergibt sich die Gleichung:

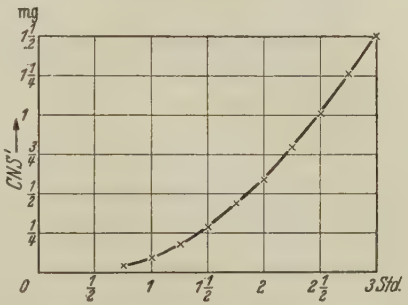


Abb. 1. Die Abhängigkeit der durch die nichtchloroformierte Froschhaut übergetretenen Rhodanmenge von der Zeit.

$$Rh = 3{,}69 \cdot 10^{-6} \cdot t^{5/2}.$$

(Rh = die Menge des in die Innenflüssigkeit übergetretenen Rhodans in mg CNS′; t = die Zeit von Versuchsbeginn an in Minuten.)

II. Untersuchungen an der chloroformierten Haut.

Arbeiten mit den verschiedensten Methoden haben zu der Erkenntnis geführt, daß die Narkotica in ihrer Wirkung auf die Permeabilität mindestens zwei grundsätzlich verschiedene Bereiche erkennen lassen. Mittlere Konzentrationen führen zu einer reversiblen Hemmung, hohe zu einer irreversiblen Steigerung. Aus methodischen Gründen sind wir in dieser Arbeit auf die Frage der Reversibilität nicht eingegangen.

Schon aus der Tatsache, daß es bisher nicht gelungen ist, für die Elektrolytdurchlässigkeit der Froschhaut die permeabilitätssenkende Phase der Narkoticumwirkung direkt nachzuweisen, geht hervor, daß der Effekt nur ein geringer sein kann. Berücksichtigt man weiterhin die unübersichtlichen Schwankungen der einzelnen Präparate in ihrer Durchlässigkeit, so wird es verständlich, daß wenige Bestimmungen zu keinem klaren Ergebnis führen können. Deshalb gingen wir bald zu ausgedehnten Reihenversuchen über. Gerade dazu ist aber die angewandte Rhodanmethode durch ihre Einfachheit ausgezeichnet geeignet.

Wir untersuchten sechs Konzentrationsstufen des Narkoticums in einer geometrischen Reihe steigend (0,016, 0,032, 0,063, 0,125, 0,250 und etwa 0,500 Vol%). Für jede Stufe wurden 24 Präparate in einer Versuchsreihe geprüft. Die Hälfte davon lief als Kontrolle und wurde genau in der vorn

beschriebenen Weise angeordnet. Bei der anderen Hälfte dagegen setzten wir der Natriumrhodanidlösung die entsprechende Menge Chloroform zu. So erhielten wir also 12 Paare von Präparaten, jedes aus dem gleichen Hautbezirk stammend, an denen leicht erkannt werden konnte, ob der chloroformierte Partner gegenüber seiner Kontrolle mehr oder weniger Rhodanionen durchtreten ließ. Das Ergebnis einer solchen Versuchsreihe nach 2 Stunden gemessen zeigt folgende Tabelle:

Chloroformkonzentration Vol.%	Gegenüber der Kontrolle ist die Durchlässigkeit der Chloroformpräparate		
	erhöht	gleich	erniedrigt
etwa 0,500	12	0	0
0,250	12	0	0
0,125	10	1	1
0,063	6	1	5
0,032	0	0	12
0,016	3	1	8

Diese Zusammenstellung zeigt zunächst deutlich die Wirkung hoher Konzentrationen. Bei 0,5 und 0.25 Vol.% tritt in allen Fällen durch die chloroformierte Haut mehr Rhodan in der gleichen Zeit als durch die normale. Während auch noch bei 0,125 Vol.% die permeabilitätssteigernde Wirkung des Narkoticums klar zu erkennen ist, tritt sie bei 0,063 Vol.% nicht mehr in Erscheinung. Bei 0,032 Vol.% haben sich nun die Verhältnisse völlig umgekehrt. Hier finden wir in allen Fällen eine verminderte Rhodandurchlässigkeit des chloroformierten Präparats. Die noch tiefere Konzentrationsstufe läßt die Hemmwirkung nicht mehr so deutlich erkennen. Zusammengefaßt können wir also sagen: Chloroform in einer Konzentration zwischen 0,016 und 0,063 Vol.% vermindert die Rhodandurchlässigkeit der Froschhaut innerhalb 2 Stunden; das Maximum dieses Effektes liegt bei 0,032 Vol.%. Höhere Konzentrationen führen in diesem Zeitraum stets zu einer Permeabilitätssteigerung.

Die in der beschriebenen Versuchsreihe gefundenen Verhältnisse waren gut reproduzierbar. Wenn auch in den anderen Serien das Ergebnis nicht so klar hervortrat, so waren doch die beiden Konzentrationsbereiche mit ihrer verschiedenen Wirkung auf die Hautdurchlässigkeit deutlich zu erkennen. Auch andere Narkotica zeigten grundsätzlich das gleiche Verhalten. Über diese Untersuchungen soll später berichtet werden.

Es erhebt sich nun die Frage, wie groß der Einfluß des Chloroforms auf die Durchlässigkeit zahlenmäßig ist. Im Bereich der maximalen Hemmwirkung (0,032) dauerte es im Mittel 260 Minuten, bis 0,5 mg NaCNS durch die chloroformierte Haut getreten waren. Bei den Kontrollen war die gleiche Salzmenge bereits nach 235 Minuten im Mittel übergetreten. Der Unterschied in den Zeiten beträgt also nur 10 %. Sehr viel eindrucksvoller ist dagegen die Permeabilitätssteigerung. An den mit 0,5 Vol.% Chloroform behandelten Präparaten traten 0,5 mg NaCNS in 50 Minuten über, während bei ihren Kontrollen dazu 185 Minuten erforderlich waren Hier verhalten sich also die Zeiten fast wie 1 : 4. Noch ein weiterer interessanter Befund zeigte sich bei dieser Konzentration. Während die Zeiten, die erforderlich sind, um 0,5 mg NaCNS durch die Haut treten

zu lassen, für die Kontrollen zwischen 135 und 240 Minuten lagen, streuten die Zeiten für die chloroformierten Präparate nur zwischen 45 und 55 Minuten. Es müssen sich also sehr eingreifende Vorgänge an der Haut abgespielt haben. Man gewinnt den Eindruck, als würde das Element, das die starken, normalerweise vorhandenen Schwankungen bedingt, beseitigt und die Membran bis zum Maximum ihrer Durchlässigkeit aufgelockert.

Um den quantitativen Zusammenhang zwischen Narkoticumkonzentration und Permeabilität anschaulicher darzustellen, haben wir, entsprechend der ersten Versuchsreihe (6 Konzentrationsstufen zu je 12 Präparatpaaren) die Zeiten bestimmt, die notwendig waren, um 0,5 mg NaCNS übertreten zu lassen. Dann wurde für jede Konzentration das Mittel aus den Zeiten der Kontrollen gebildet und durch das Mittel aus den Zeiten der chloroformierten Präparate dividiert. Ist dieser Quotient 1, so heißt das, die Zeiten sind gleich, es ist keine Änderung der Durchlässigkeit nachweisbar. Wird er kleiner als 1, so müssen die Chloroformzeiten länger als ihre Kontrollen sein, d. h. es liegt eine Durchlässigkeitsverminderung vor. Für Werte über 1 muß die Chloroformzeit verkürzt sein, es besteht also eine Permeabilitätssteigerung.

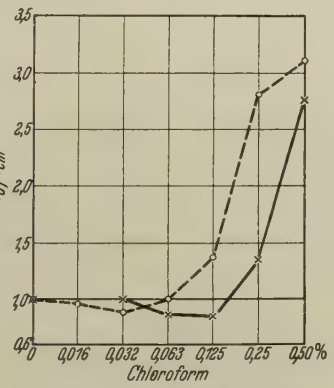


Abb. 2. Die Abhängigkeit des Quotienten Kontrollzeit/Chloroformzeit von der Chloroformkonzentration.

Abb. 2 zeigt nun eine graphische Darstellung dieser Quotienten in Abhängigkeit von der Konzentration. Auf der Abszissenachse sind die Vol.% Chloroform abgetragen, auf der Ordinatenachse die Werte der Quotienten Kontrollzeit/Chloroformzeit. Die gestrichelte Kurve zeigt die Befunde der ersten Versuchsreihe, auf die sich vorwiegend die früheren Angaben bezogen, die ausgezogene stellt das Ergebnis einer anderen Serie dar. Die gute Reproduzierbarkeit der Resultate erkennt man sofort an dem auffallend ähnlichen Verlauf der Kurven, doch ist die letztere um zwei Konzentrationsstufen nach rechts in das Gebiet höherer Chloroformwerte verschoben. Auf diesen Punkt wollen wir später näher eingehen. Unterhalb 0,016 Vol.% Chloroform wurden keine Versuche ausgeführt. Bei dieser Konzentration ist in der ersten Versuchsreihe noch keine sichere Änderung des Quotienten festzustellen. Bei 0,032 Vol.% dagegen sinkt er bis unter 0,9 ab; die Kurve zeigt, daß hier die Durchlässigkeit ein Minimum hat. Für 0,062 Vol.% besitzt er wieder den Wert 1 und bei noch höheren Konzentrationen sehen wir nun ziemlich kritisch eine beträchtliche Erhöhung der Durchlässigkeit auftreten. Der Quotient steigt sprunghaft von 1,35 für 0,125 Vol.% auf 2,8 bzw. 3,1 für 0,25 bzw. 0,5 Vol.%. Die

zweite Kurve zeigt grundsätzlich dasselbe Verhalten, abgesehen von der Verschiebung nach rechts. Auch die Größen der Änderungen stimmen auffallend gut überein.

Für die eigenartige Rechtsverschiebung der zweiten Kurve haben wir keine ganz sichere Erklärung gefunden. Es bestehen zwei Möglichkeiten. Die letzte Versuchsreihe wurde einige Wochen nach der ersten mit einer Sendung neuer Tiere durchgeführt. Vielleicht könnten die individuellen Schwankungen in der Ansprechbarkeit auf Chloroform so groß sein, daß damit der Effekt zu erklären wäre. Allerdings ist der Unterschied so groß, daß diese Annahme nicht sehr befriedigt. Mehr Wahrscheinlichkeit besitzt die Vermutung einer Temperaturwirkung. Während die erste Reihe bei 18° C durchgeführt wurde, fand die zweite im Hochsommer bei 26° C statt. Nun ist schon verschiedentlich gefunden worden, daß Chloroform wahrscheinlich mit zu den wenigen Narkotica gehört, die einen negativen Temperaturkoeffizienten haben, d. h. deren Wirksamkeit mit steigender Temperatur abnimmt. So sah Zehl[5], daß er gegenüber 12° C bei 40° die dreifache Konzentration nehmen mußte, um den gleichen Effekt an dem Schimmelpilz Aspergillus hervorzurufen. Es wird vermutet, daß für diese Narkotica der Teilungskoeffizient Lipoid/Wasser ebenfalls mit steigender Temperatur abnimmt, wie Meyer[6] tatsächlich für einige davon nachweisen konnte.

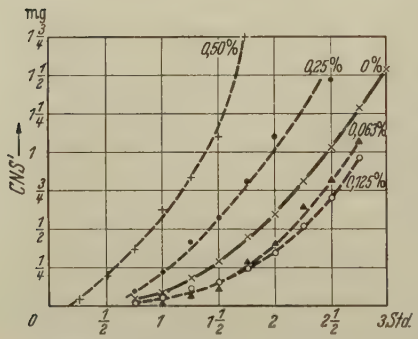


Abb. 3. Die Abhängigkeit der durch die Froschhaut getretenen Rhodanmenge von der Zeit für verschiedene Chloroformkonzentrationen.

Schließlich haben wir noch für verschiedene Chloroformkonzentrationen untersucht, wie sich die übergetretene Rhodanmenge in Abhängigkeit von der Zeit verhält. Das Ergebnis zeigt die graphische Darstellung in Abb. 3. Entsprechend Abb. 1 ist wieder auf der Abszissenachse die Zeit in Stunden, auf der Ordinatenachse die Menge des in die Innenflüssigkeit übergetretenen Rhodans in mg CNS′ abgetragen. Die ausgezogene Kurve ist die „Normalkurve" der Abb. 2. Die Meßpunkte der gestrichelten Chloroformkurven stellen die Mittel aus je 12 Doppelversuchen der zweiten Meßreihe dar.

Sehr gut ist nun zu sehen, wie sich die Kurven für mittlere Konzentrationen nach rechts, diejenigen für hohe Konzentrationen nach links von der „Normalkurve" gruppieren. Betrachten wir die Verhältnisse bei 0,125 und 0.063 Vol.% etwas näher, so ergibt sich eine auffallende Tatsache. Die Durchlässigkeit der Haut in einem bestimmten Zeitpunkt

[5] Zehl, B.: Z. allg. Physiol. **8**, 140 (1908). — [6] Meyer, H. H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **42**, 109 (1899).

wird gegeben durch den ersten Differentialquotienten der dargestellten Kurven, d. h. durch die Neigung der Tangente in diesem Punkt. Nun sieht man, daß die beiden Kurven für mittlere Konzentrationen (ganz rechts) nur in dem Bereich bis zu ungefähr 2 Stunden eine geringere Neigung als die Normalkurve haben, danach ihr aber ziemlich parallel verlaufen. Die Durchlässigkeit der Haut für Rhodan ist also nur innerhalb der ersten beiden Stunden deutlich vermindert, danach kehrt sie wieder zu ihrem Normalwert zurück, d. h. es gehen jetzt wieder pro Zeiteinheit dieselben Mengen hindurch wie an der normalen Haut, wenn auch die Gesamtmenge verringert ist. Nehmen wir z. B. die Werte für $1^1/_2$ Stunden, so finden wir für das nichtchloroformierte Präparat 0,29, für das chloroformierte 0,14 mg CNS', also ungefähr die Hälfte. Bei $2^1/_2$ Stunden sind die entsprechenden Werte aber 1,01 für das nichtchloroformierte und 0,79 für die Konzentration von 0,063 Vol.%, d. h. jetzt ist der Chloroformwert nur noch 21 % kleiner. Weiterhin sieht man, daß die Kurven für 0,063 und 0,125 % bis zu $1^3/_4$ Stunden praktisch übereinstimmen, danach aber hält die Hemmwirkung bei der höheren Konzentration etwas länger an.

Bei 0,25 und 0,5 Vol.% liegen die Dinge dagegen grundsätzlich anders. Hier nimmt die Neigung der Kurven mit wachsender Zeit immer mehr zu, die Durchlässigkeit der Haut wird immer größer. Der Prozeß, der zu dieser Permeabilitätssteigerung führt, muß also ständig weiter fortschreiten. Daß sich eine ganz eingreifende Veränderung vollzogen hat, zeigt die Kurve für 0,5 % sehr deutlich. Besonders in ihrem Anfangsteil hebt sie sich auffallend von der übrigen Kurvenschar durch ihre Linksverschiebung ab. Während für alle anderen Konzentrationen das erste Rhodan in der Innenflüssigkeit erst nach $^3/_4$ Stunden nachweisbar wird, tritt es hier schon nach $^1/_4$ Stunde auf. Es muß also die Hemmung, die sonst die Rhodanionen in der Haut erfahren, hier plötzlich weitgehend wegfallen.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Wertheimer hat im Zusammenhang mit seinen Untersuchungen über die irreziproke Permeabilität auch die Frage geprüft, wie die Cl-Durchlässigkeit der Froschhaut durch Alkohol in narkotischen Konzentrationen beeinflußt wird. Er fand dabei zwar eine sehr erhebliche Änderung der Permeabilität für Wasser, dagegen nicht mit Sicherheit eine solche für das Chlorion. Unsere Rhodanversuche zeigen, daß die Hemmung der Salzdurchlässigkeit durch mittlere Narkoticumkonzentrationen so klein ist, daß sie im Einzelversuch wegen der normalerweise schon vorhandenen Unterschiede kaum erkannt werden kann. Der Reihenversuch dagegen führt zu dem Ergebnis, daß eine solche Permeabilitätsveränderung tatsächlich vorhanden ist. Damit wurde der direkte Beweis für eine Erscheinung erbracht, die auf Grund der elektrischen Messungen schon lange angenommen werden mußte. Auch in quantitativer Hinsicht ergibt sich

eine befriedigend gute Übereinstimmung. So fand Osterhout ein Maximum der Widerstandserhöhung der Froschhaut bei 0,05 Vol.% Chloroform, diese Veränderung war gut reversibel. Konzentrationen über 0,1 Vol.% führten zu einer irreversiblen Widerstandsverminderung. Diese Verhältnisse entsprechen also ungefähr dem Ergebnis unserer ersten Versuchsreihe. Gildemeister [7] sah eine starke reversible Senkung der Kapazität (angegeben in Millihenry der kompensierenden Spule), wenn er zu 25 ccm Außenflüssigkeit zwei Tropfen Chloroform gab, das dürfte eine Konzentration von 0,12 Vol.% darstellen. Unter seiner Leitung hat dann Lasnitzki [8] die Untersuchungen erweitert. Später wurden die Ergebnisse von Hōzowa [9] nachgeprüft und vollauf bestätigt.

Die Frage, ob es sich bei den gefundenen Konzentrationen tatsächlich um „narkotische" handelt, können wir auf Grund unserer Untersuchungen nicht entscheiden, da uns an der Haut jedes Kriterium für den Eintritt einer reversiblen Lähmung fehlt. Vergleicht man jedoch unser Ergebnis mit den von Winterstein [10] an der Froschmuskelmembran gefundenen Werte, an der durch elektrische Reizung die Größe der Erregbarkeit geprüft werden kann, so ergibt sich ebenfalls eine bemerkenswerte Übereinstimmung. Er fand bei 0,1 Vol.% eine deutliche reversible Herabsetzung der Cl-Permeabilität, bei 0,3 Vol.% eine irreversible Steigerung.

Zusammenfassung.

1. An die Außenfläche der überlebenden Froschhaut wird eine $^1/_{10}$ n Natriumrhodanidlösung gebracht und die nach innen (Ringer) durchtretenden Rhodanionen kolorimetrisch bestimmt. Es wird die Abhängigkeit der übergetretenen Menge von der Zeit ermittelt.

2. Mittlere Chloroformkonzentrationen, je nach Versuchsbedingungen zwischen 0,032 und 0,125 Vol.%, erniedrigen die Rhodandurchlässigkeit der Haut.

3. Größere Konzentrationen führen zu einer starken Permeabilitätssteigerung.

[7] Gildemeister, M.: Ber. Physiol. **2**, 182 (1920). — [8] Lasnitzki, A.: Über den Einfluß einiger Narkotica auf die Zellpermeabilität. Inaug.-Diss. Berlin 1922. — [9] Hōzowa, A.: Biophysics (Jap.) I, 59 (1924). — [10] Winterstein, H.: Advances in mod. Biology. V, 1 (1936).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Über die sedative Wirkung von Pyridinderivaten.

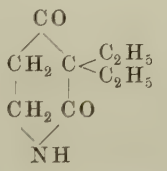
Von

A. Krautwald, G. Kuschinsky und H. Riedel.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 25. Mai 1939.)

Unter den heute gebräuchlichen synthetischen Sedativa und Schlafmitteln spielen die Säureureide bzw. -amide und Barbitursäureabkömmlinge die Hauptrolle. Gerade deshalb ist es von Interesse, auch einmal sedative Wirkungen von Substanzen einer etwas andersartigen chemischen Konstitution zu untersuchen und die Vorbedingungen für ihre therapeutische Brauchbarkeit zu prüfen. Von der herstellenden Firma Hoffmann-La Roche wurde uns das 2, 4-Dioxo-3, 3-Diäthylpiperidin



zur pharmakologischen Prüfung zur Verfügung gestellt, da die Voruntersuchungen eine sedative Wirkung gezeigt hatten. Man erkennt aus dem Formelbild, daß die Substanz von der Diäthylbarbitursäure dadurch unterschieden ist, daß eine Iminogruppe und eine Carbonylgruppe durch je eine Methylengruppe ersetzt wurde. Die genannte Substanz bildet farblose Kristalle, die bei 103—104° schmelzen; sie löst sich zu etwa 10 % in Wasser, ist gut löslich in Alkohol, Äther, Glycerin und Olivenöl, dagegen wenig löslich in Petroläther. In wässeriger Lösung ist sie schwach lackmussauer. Lösungen in verdünnten Säuren und verdünntem Alkali sind beständig, in der Hitze tritt jedoch bei alkalischer Reaktion Zersetzung unter Ringaufspaltung ein.

Zur pharmakologischen Charakterisierung der genannten Substanz haben wir zunächst die mittlere letale und die sedative bzw. narkotische Dosis bei verschiedenen Tierarten festgestellt. Dann wurde geprüft, ob Gewöhnung und Kumulation eine Rolle spielen und ob Nebenwirkungen am Kreislauf auftreten. Außerdem haben wir die Ausscheidung im Harn des Hundes untersucht und versucht, Ausscheidungsprodukte zu identifizieren.

Vergiftungserscheinungen und mittlere letale Dosis des 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthylpiperidins.

An 60 Ratten mit einem mittleren Gewicht von 150 g, wurde die mittlere letale Dosis (M.L.D.) nach der Methode von Kärber festgestellt. Sie betrug bei oraler Applikation 1,1 g/kg. Etwa 10 Minuten nach Eingabe des Präparates mit der Magensonde war die erste hypnotische Wirkung in Form von zunehmender Bewegungsunsicherheit zu beobachten. Krämpfe und Erregungszustände traten nicht auf. Dagegen ließ sich nach mittleren Dosen, etwa 0,4 g/kg, ein leichtes Vibrieren der Muskeln feststellen, das etwa 20 Minuten nach der Applikation auftrat. Danach entwickelte sich sehr rasch ein von der Dosierung abhängiger, verschieden lang anhaltender narkoseähnlicher Zustand mit Seitenlage, verlangsamter Atmung, Hypotonie und Reaktionslosigkeit. Durch Dosen bis 0,7 g/kg wurde niemals eine Ratte getötet. In diesen Fällen schliefen die Tiere 12—16 Stunden und waren nach 24 Stunden völlig erholt. Bei der Sektion waren makroskopische Organveränderungen nicht erkennbar.

Bei Katzen liegt nach Versuchen an neun Tieren die ungefähre mittlere letale Dosis nach Zufuhr per os bei 1 g/kg, also in demselben Dosenbereich. Auch bei den Katzen war wie bei den Ratten ein schneller Eintritt der Wirkung zu beobachten. Erregungszustände traten auch hier nicht auf.

Sedative Wirkung von 2, 4-Dioxo-diäthylpiperidin.

Bei der Prüfung der sedativen Wirkung wurde der Gedanke zugrunde gelegt, daß derartige Wirkungen besser an erregten Tieren zu registrieren sind und daß man in einem solchen Fall den Verhältnissen beim erregten Menschen etwas näher kommt. Deshalb erhielten die für diese Versuche verwendeten Ratten vor dem Versuch Coffein.

Methodik.

Die Prüfung der sedativen Wirksamkeit wurde in „Zitterkäfigen" vorgenommen, wie sie in ähnlicher Form schon öfters beschrieben worden sind, z. B. von Kochmann und Kunz[1].

Ein Drahtkäfig von 20 cm Breite, 35 cm Länge und 25 cm Höhe mit Türen an der Breit- und Längsseite ruhte auf einem festen Gestell und war mit einem schwingungsfähigen Boden versehen. Dieser bestand aus einer leichten Metallplatte, an der auf der einen Breitseite eine beiderseits vorspringende Metalleiste befestigt war, von deren beiden Enden Drahtspiralen bis zu einer auf dem Dach des Käfigs quer angebrachten Metallstange zogen. Die andere Breitseite des Bodens ruhte mittels längsverlaufender, starr angebrachter Metallschienen auf einem festen Lager. Der dem Lager benachbarte Bezirk des Käfigs war wegen der schlechten Schwingungsfähigkeit den Ratten nicht zugänglich. Durch Änderung der Spannung der Drahtspiralen konnte die Größe der Ausschläge des Bodens und somit die Empfindlichkeit des Apparates verändert werden. Mit Hilfe zweier Mareyscher

[1] Kochmann, M., u. H. Kunz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 421, 1936.

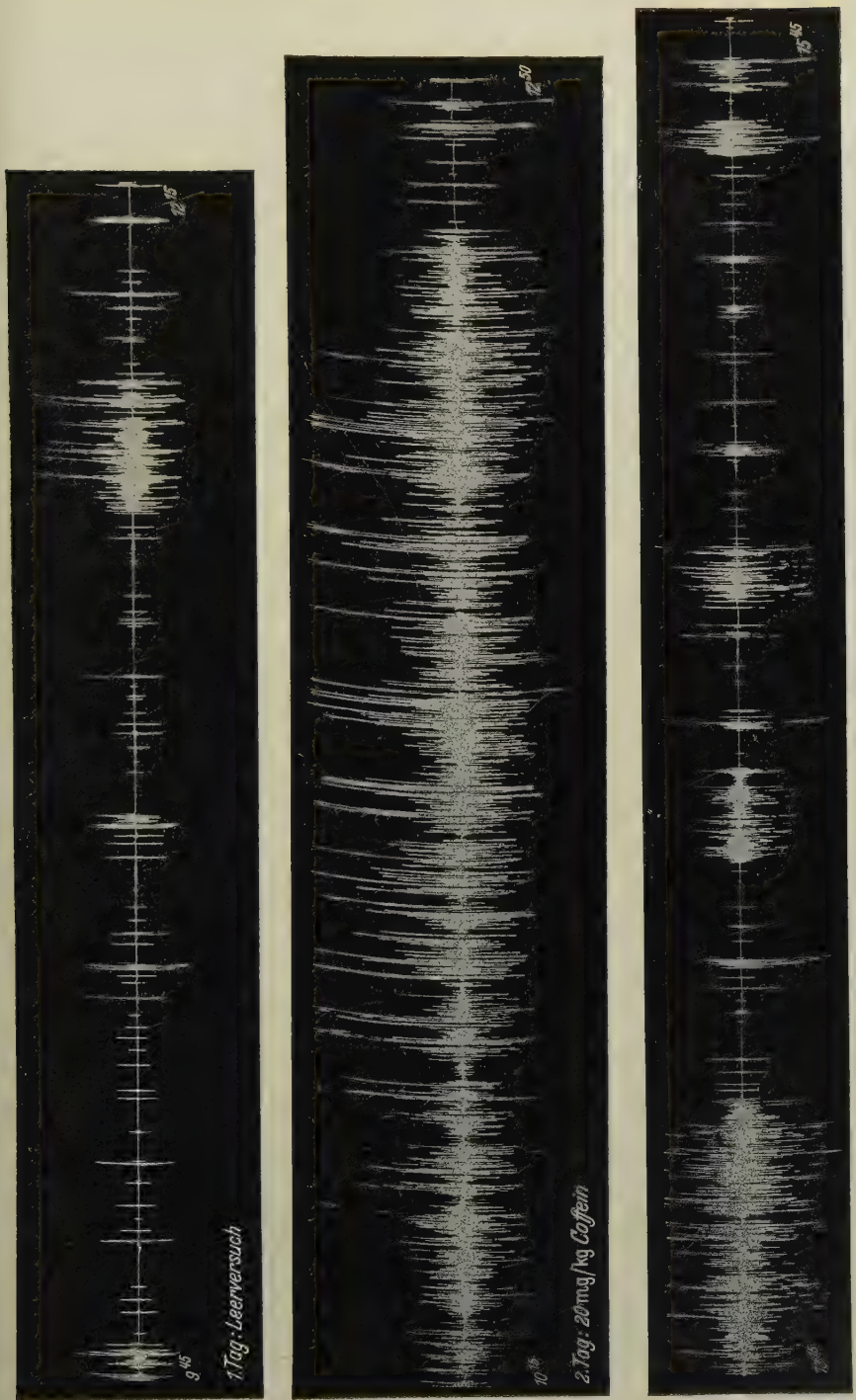


Abb. 1. Bewegungen einer Ratte im „Zitterkäfig". Leerversuch = Spontanaktivität. Subcutane Coffein-Injektion.

Kapseln wurden die Schwingungen auf einem Kymographion aufgezeichnet. Die Versuche wurden in halbdunklen, ruhig gelegenen Kellerräumen während der Vormittagsstunden durchgeführt. Der Gang der Untersuchungen war folgender: Am ersten Tage wurde die Spontanaktivität, am zweiten Tage die Aktivität nach Coffein bei demselben Tier ermittelt. Am dritten Tage oder nach mehrtägigen Pausen wurde demselben Tier zuerst die gleiche Coffeindosis wie beim ersten Male gegeben und 5—15 Minuten später das Sedativum per os zugeführt. Insgesamt wurden 76 Versuche an männlichen Ratten durchgeführt.

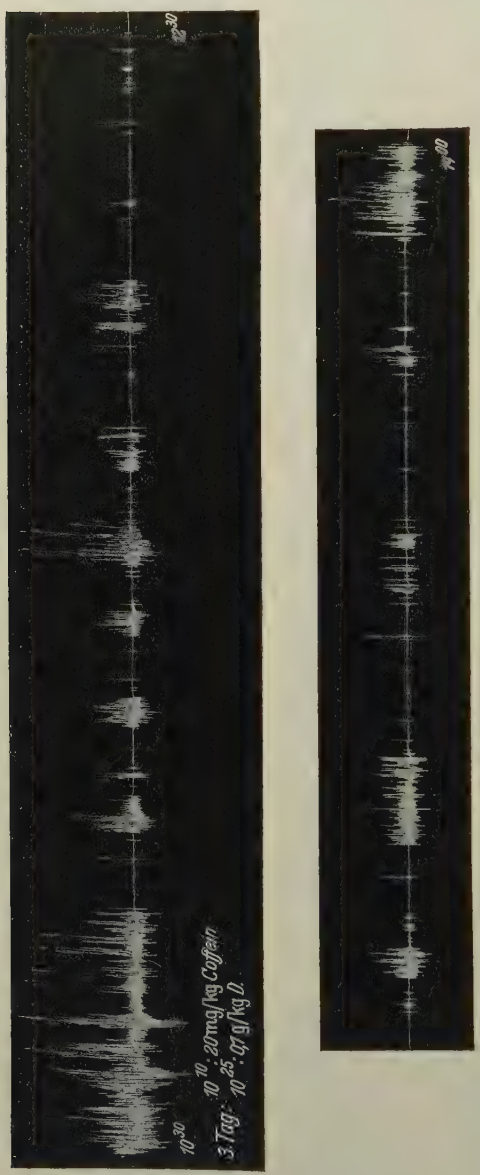


Abb. 1. Fortsetzung. Die Höhe der Ausschläge an verschiedenen Versuchstagen ist nur annähernd vergleichbar. 0,1 g/kg D = 0,1 g/kg 2,4-Dioxo-3,3-diäthylpiperidin wurde per os gegeben.

Die Prüfung der Spontanaktivität ergab in 24 Versuchen, daß die Tiere sich in den Vormittagsstunden ruhiger verhielten, als zu allen anderen Zeiten (Abb. 1). Die stärkste Aktivität zeigten alle Tiere während der Nacht. Nach der Feststellung der Spontanaktivität erhielten die Ratten in 26 Versuchen Coffein subcutan. Die Dosen waren zunächst 20 und 30 mg/kg, später wurde nur noch 20 mg gegeben. Diese Coffeinmenge bewirkte eine deutliche 3—4stündige Erregung (Abb. 1). An 2 oder 3 aufeinanderfolgenden Tagen wiederholte Coffeininjektionen gleicher Dosis ließen keine Gewöhnung erkennen. Wurde nun am Tage nach der Coffeingabe oder einige Tage später wieder dieselbe Dosis Coffein und gleichzeitig das Sedativum in verschieden hohen Dosen gegeben (0,05, 0,1, 0,2, 0,25, 0,3 und 0,5 g/kg), so zeigte sich, daß 0,05 g/kg noch unwirksam war, aber 0,1 g/kg schon eine deutliche sedative Wirkung hatte.

Nach dieser Gabe war die Aktivität sogar geringer als die Spontanaktivität. Die Coffeinerregung begann etwa 20 Minuten nach der oralen Zufuhr des Dioxodiäthylpiperidins zu schwinden. Die Wirkungsdauer betrug etwa 4 Stunden. Äußerlich war den Ratten bis auf das ruhige Verhalten nichts anzumerken.

Die Spontanaktivität wurde durch 0,1 g/kg noch nicht beeinflußt, erst 0,2 g kg verminderten auch ohne vorherige Coffeingabe die Bewegungen normaler Ratten. Die größeren Dosen hatten einen stärkeren Effekt, die Bewegungsunsicherheit und Benommenheit waren ausgesprochener. Bei 0,5 g/kg kam es mitunter zur Seitenlage, doch war das Reaktionsvermögen nie erloschen. Diese Dosis hatte eine Wirkungsdauer von etwa 10 Stunden.

Chronische Versuche.

Zur Prüfung der Frage der Gewöhnung und Kumulation wurden Ratten und Hunde über längere Zeit mit Dioxodiäthylpiperidin behandelt. 12 Ratten erhielten 18 Tage lang je 0,25 g/kg, also eine deutlich sedative Dosis des Präparates in einer 5 %igen Lösung mit der Magensonde. Die Wirkung hielt etwa 6 Stunden lang an und äußerte sich in leichter Benommenheit und Unsicherheit der Bewegungen. Diese Wirkung wurde bei chronischer Zufuhr weder verstärkt noch vermindert. Die Tiere hatten auch gut gefressen und annähernd dasselbe Gewicht wie vorher. Am Ende der Versuchsperiode war die Coffeinwirkung selbst nicht verändert (3 Versuche) und wurde durch 0,1 g/kg des Sedativums genau so vermindert, wie ohne Vorbehandlung (3 Versuche). Diese Versuchsergebnisse zeigen, daß eine stärkere Gewöhnung oder Kumulation nicht eintritt.

An einem 24 kg schweren Hunde wurde ein ähnlicher Versuch über 7 Wochen ausgedehnt. Das Tier erhielt täglich 0,1 g/kg des Präparates mit der Magensonde. Bald nach der Eingabe war der Hund benommen und nicht mehr fähig, sicher zu stehen oder zu laufen. Die Wirkung war nach 10—12 Stunden etwas geringer, war aber am nächsten Morgen noch nicht völlig abgeklungen. In den ersten 4 Tagen schien die Wirkung etwas zuzunehmen, blieb die übrige Zeit aber zunächst ziemlich gleichmäßig erhalten. Dann wurden die Gangstörungen deutlich geringer. Es war aber nur eine sehr leichte Abnahme der Wirkung zu beobachten. Auch in den letzten Tagen noch war morgens die Wirkung der Dosis des Vortages zu bemerken.

Die Futteraufnahme war während des Versuches gut. Der Hund hatte an Gewicht zugenommen. Eiweiß, Zucker und Urobilinogen waren im Harn stets negativ.

Die histologische Untersuchung des zur Untersuchung der Organe getöteten Tieres ergab an Herz, Darm, Lunge und Niere keine krankhaften Befunde.

Wirkung auf den Kreislauf.

Bei Katzen wurde in Äther- oder Chloralosenarkose ein Katheter in den Dünndarm eingebunden und der Blutdruck aus der Art. Carotis registriert. Verhinderung der Blutgerinnung nach Trendelenburg. Eine durch den Katheter verabfolgte Dosis erzeugte eine viel stärkere Wirkung als die gleiche Dosis bei oraler Zufuhr. Es zeigte sich, daß in der Ätharnarkose Gaben von 0,1 0,2 g/kg, auch bei mehrmaliger Wiederholung, immer ohne wesentliche Wirkung auf den Blutdruck waren. Selbst 0,3–0,5 g/kg war ohne stärkeren Effekt. Dagegen war der Blutdruck in der Chloralosenarkose, also bei vorhandenen Gefäßreflexen, viel labiler. 0,1 g/kg hatte aber auch hier keine Wirkung, während 0,3 g kg eine deutliche Senkung, eventuell tödliche Wirkung zeigte. Am Starlingschen Herz-Lungen-Präparat zeigte die Dosis von 0,3 g bei direkter Gabe in das dem Herzen zuströmende Blut keine Schädigung des Herzens.

Die Ausscheidung von 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthylpiperidin.

a) Vorversuche.

Wegen der guten Löslichkeit des 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthylpiperidins in Chloroform wurden zunächst Ausscheidungsversuche beim Hund so angelegt, daß die nach Eingabe mit der Magensonde in bestimmten Abständen entnommenen Harnproben mehrmals mit Chloroform ausgeschüttelt wurden. Bei Zusatz des Präparates zu normalem Hundeharn (100 mg auf 100 ccm) war es möglich, 100 % der zugesetzten Menge auf diese Weise wiederzugewinnen. Aus 100 ccm normalem Hundeharn ließ sich bei der gleichen Methode 1,4 mg chloroformlöslicher unbekannter Substanzen gewinnen.

Ausscheidung nach einmaligen Gaben.

In zwei Versuchen an zwei verschiedenen Hunden (17,5 bzw. 23,5 kg) wurde je 0,1 g/kg der genannten Substanz eingegeben. Innerhalb der ersten 24 Stunden wurden 17,8 bzw. 11,6 % der zugeführten Menge durch Chloroform extrahiert. Es handelt sich jedoch nicht um kristallisierbares Dioxodiäthylpiperidin, sondern um amorphe zunächst nicht identifizierte Massen. In der zweiten 24 Stunden-Periode wurde keine Substanz mehr ausgeschieden.

Bei einem chronischen Versuch erhielt ein 23,5 kg schwerer Hund 51 Tage lang täglich 0,1 g/kg Dioxodiäthylpiperidin (s. oben Chronische Versuche). An 11 Tagen wurde während dieses Zeitraumes die 24-Stunden-Ausscheidung aus je einer Harnprobe von 20 ccm geprüft. Auch hier wurde nicht die eingegebene Substanz, sondern die nach einmaligen Gaben beobachteten amorphe Masse extrahiert. Die Ausscheidung schwankte zwischen 12,1 und 20,7 % der zugeführten Menge zu verschiedenen Zeiten zwischen

dem 3. und 51. Versuchstage. Nur der erste und zweite Versuchstag zeigte etwas geringere Werte, nämlich 11,6 und 7,5 %. Auch bei Berücksichtigung der kleinen benutzten Harnproben, die größere Fehlerquellen offen lassen, und trotz der Möglichkeit des Vorhandenseins wechselnder Mengen der obenerwähnten chloroformlöslichen Substanzen im Hundeharn ist anzunehmen, daß die Ausscheidung auch während einer über viele Wochen fortgesetzten Zufuhr sich nicht wesentlich ändert, wenn auch die wirklichen Werte nicht genau festgestellt sind.

b) Identifizierung des Ausscheidungsproduktes.

Um das oben beschriebene Ausscheidungsprodukt zu identifizieren, war es nötig, die Extraktionsmethode etwas weiter zu verfeinern. Im folgenden werden zwei in dieser Weise durchgeführte Versuche beschrieben.

Ein 8,3 kg schwerer Hund bekam mit der Schlundsonde in 200 ccm Leitungswasser 0,2 g/kg 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthylpiperidin, d. h. 1,660 g.

Im Stoffwechselkäfig wurde die 24-Stunden-Harnmenge aufgefangen und die letzte Portion mit dem Katheter entnommen.

Die Harnmenge betrug 1000 ccm. Davon wurden 500 ccm dreimal mit je 50 ccm Chloroform ausgeschüttelt und die hierbei entstehende Emulsion durch Zentrifugieren bis auf eine ganz dünne Schicht zerstört. Das Chloroform wurde nun im Scheidetrichter abgetrennt und im Teilvakuum bei höchstens 50° abdestilliert. Zur Vertreibung der letzten Reste anhaftenden Wassers wurde der Rückstand dann noch zweimal mit je 20 ccm absoluten Alkohols versetzt und der Alkohol ebenfalls abdestilliert. Das zurückbleibende Öl wurde in 5 ccm heißen Butyloxyds aufgenommen und die Lösung sofort in Eiswasser gestellt, wobei sich in kurzer Zeit Kristalle ausschieden. Diese wurden von der Mutterlösung abgetrennt und im warmen Luftstrom vom anhaftenden Butyloxyd befreit. Die auf diese Weise grob gereinigten Kristalle wurden dann in wenig heißem Wasser gelöst, die Lösung mit einer linsengroßen Menge aktiver Kohle geschüttelt, filtriert und auf dem Wasserbade in der Abdampfschale eingedampft. Die sich ausscheidenden Kristalle wurden im Vakuumexsikkator getrocknet und gewogen.

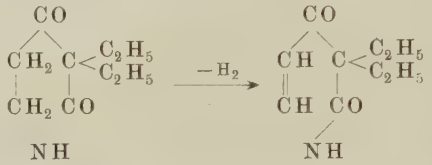
Ergebnis: 0,067 g aus 500 ccm Harn.

In den 1000 ccm Harn hätten dann rund 135 mg dieser gewonnenen Substanz enthalten sein müssen, d. h. unter Berücksichtigung der Umwandlung im Organismus etwa 8 % der eingegebenen Menge.

Der Schmelzpunkt lag bei 90° (unkorr.).

In einem Parallelversuch am gleichen Tier wurden nach Eingabe von 1,660 g 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthylpiperidin aus dem 24-Stunden-Harn 0,120 g weißer Kristalle isoliert, deren Schmelzpunkt bei 89,5° lag. Unter Berücksichtigung der Umwandlung im Organismus wurden also etwa 7 % der angegebenen Menge ausgeschieden.

Die Höhe des Schmelzpunktes erweckte den Verdacht, daß es sich bei dem Ausscheidungsprodukt um eine uns gleichfalls zur Verfügung stehende um zwei Wasserstoffatome ärmere Substanz, nämlich das 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthyltetrahydropyridin handeln könnte, daß also im Organismus folgende Reaktion einträte:



Diese Vermutung wurde durch die folgenden Untersuchungen gestützt.

Das 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthyltetrahydropyridin stellt ein in Wasser, Chloroform, Äthylalkohol und Butyloxyd vollständig lösliches weißes Pulver dar. Der Schmelzpunkt wurde in mehreren Proben zu 90° (unkorr.) bestimmt. Der Mischschmelzpunkt mit den Ausscheidungsprodukten stimmte ebenfalls mit dem des wasserstoffärmeren Präparates überein.

Pharmakologische Wirkungen des Ausscheidungsproduktes.

Das 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthyltetrahydropyridin hatte im Tierversuch narkotische Wirkung.

Ein 3,05 kg schweres Kaninchen, dem 0,2 g/kg, d. h. 0.61 g, oral in wässeriger Lösung mit der Schlundsonde verabreicht worden waren, befand sich nach 45 Minuten in Bauchseitenlage. Auf starkes Kneifen reagierte es mit schwachen Abwehrbewegungen. 8 Stunden nach der Applikation war völlige Erholung eingetreten.

Eine Katze, der 0,2 g/kg des Präparates oral appliziert worden war, zeigte etwa 1 $^1/_2$—2 Stunden später ein eigentümliches Symptom. Die Katze befand sich in Seitenlage und bekam etwa jede halbe Minute eine Art Krampfanfall, wobei sich die Extremitäten leicht streckten und ein deutliches Muskelzittern wahrzunehmen war.

Ein ganz ähnliches Bild war bei Hund und Ratte nach Verabreichung einer entsprechenden Dosis zu beobachten.

Die Bestimmung der mittleren tödlichen Dosis erfolgte an Ratten in 6 Gruppen zu je 7 Tieren. Die mittlere letale Dosis berechnete sich hiernach zu 0,37 g/kg Ratte, d. h. das 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthyltetrahydropyridin wirkte etwa dreimal so toxisch wie das 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthylpiperidin, dessen mittlere letale Dosis erst bei 1,10 g/kg Ratte erreicht wurde.

Das Auftreten von krampfartigen Zuckungen war bei diesen Rattenversuchen schon bei Dosen von 0,2 g/kg 1 Stunde nach der Applikation festzustellen. Leichtes Beklopfen des Schwanzes oder der Bauchgegend genügte, um in den Extremitäten und der Rumpfmuskulatur eigentümliche Zuckungen hervorzurufen. Die Zuckungen waren frequent und am besten

mit einem feinen Vibrieren zu vergleichen, wobei sich gleichzeitig die Extremitäten etwas streckten. 14 Stunden lang trat dann etwa alle 2 bis 3 Minuten die Vibration auf, die 2—3 Sekunden lang andauerte. Dabei blieben die Tiere in jeder beliebigen Lage liegen. Nach 24 Stunden war Erholung eingetreten.

Auffällig war bei diesen Versuchen auch eine gewisse Erregbarkeitssteigerung, die bald nach der Applikation eintrat und je nach Höhe der verabreichten Dosis längere oder kürzere Zeit anhielt, um dann schließlich dem narkotischen Stadium mit den oben beschriebenen Krämpfen Platz zu machen.

Das geschilderte Symptomenbild entsprach völlig dem, das auch nach Verabreichung des Ausscheidungsproduktes von 3, 3-Diäthyl-2, 4-dioxopiperidin an der Ratte zu beobachten war.

Eine 150 g schwere Ratte, der 0,35 g kg dieses Ausscheidungsproduktes oral appliziert worden waren, befand sich nach 5 Minuten in Bauchseitenlage, zeigte gesteigerte Reflexerregbarkeit und anschließend ein rhythmisch wiederkehrendes Muskelzittern. Nach 24 Stunden hatte sich das Tier erholt. Es ist somit sehr wahrscheinlich gemacht, daß im Organismus eine Dehydrierung des 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthylpiperidins stattfindet und 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthyltetrahydropyridin im Harn erscheint, also aus dem weniger narkotisch wirksamen das wirksamere wird.

Wirkungsdauer von 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthylpiperidin und 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthyltetrahydropyridin.

Versuche über Wirkungsart und -dauer von 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthylpiperidin im Vergleich zu 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthyltetrahydropyridin ergaben, daß bei zwei gleich großen 2,2 kg schweren Katzen nach oraler Applikation von je 0,1 g/kg Substanz nach 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthylpiperidin lediglich unsichere taumelnde Bewegungen beobachtet wurden. Dieses Trunkenheitsstadium setzte etwa 1 Stunde nach der Applikation ein, vertiefte sich jedoch nicht weiter. 5 Stunden später waren diese Erscheinungen verschwunden.

Das Tier, dem 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthyltetrahydropyridin verabreicht worden war, befand sich 1 Stunde nach der Gabe in Bauchseitenlage und wurde von einem etwa jede dritte Minute wiederkehrenden Muskelzittern des ganzen Körpers durchgeschüttelt. Dieser Zustand hielt über 10 Stunden lang an. Vollständige Erholung war erst nach 24 Stunden eingetreten.

Im Anschluß hieran wurde versucht, durch eine höhere Dosis 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthylpiperidin einen ähnlichen Zustand zu erzeugen, wie er nach 0,1 g/kg 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthyltetrahydropyridin aufgetreten war. Es wurden diesmal 0,3 g/kg oral appliziert. Der lähmende Effekt mit Taumeln und Bauchseitenlage setzte hier zur gleichen Zeit wie nach 0,1 g/kg 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthyltetrahydropyridin ein; ebenso war nach 24 Stunden

vollständige Erholung eingetreten. Es fehlte jedoch das Muskelzittern, das sich wieder bei 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthyltetrahydropyridin gezeigt hatte.

In entsprechenden Versuchen an Ratten trat die Wirkung von 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthyltetrahydropyridin schneller ein, war stärker und hielt kürzere Zeit an als nach 2, 4-Dioxo-diäthylpiperidin.

Die Ausscheidung des 2, 4-Diäthyl-3, 3-dioxotetrahydropyridins.

Um festzustellen, wieviel von einer eingegebenen Menge 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthyltetrahydropyridin unverändert im Harn erscheint, wurden unserem 8,3 kg schweren Versuchshunde 0,3 g kg = 2,49 g Substanz mit der Schlundsonde in 200 ccm Wasser verabfolgt. 1 Stunde später schlief das Tier fest, war nach 24 Stunden wieder munter und hatte in dieser Zeit 300 ccm Harn ausgeschieden. Die letzte Portion wurde mit Katheter entnommen. Diese für 24 Stunden etwas geringe Harnmenge wurde nach dem anfangs beschriebenen Verfahren aufgearbeitet und dabei von den eingegebenen 2,49 g nur 0,073 g wiedergefunden.

Der Hund wurde noch weitere 24 Stunden im Stoffwechselkäfig gehalten, jedoch war aus den während dieser Zeit ausgeschiedenen 600 ccm Harn nichts sauber Kristallisierbares mehr zu gewinnen. Es schieden sich in dem gekühlten Butyloxyd nur ganz wenige punktförmige Kriställchen aus, die nicht sauber wurden, sondern lackig blieben und bei denen wegen der geringen Menge eine Schmelzpunktbestimmung nicht möglich gewesen wäre.

Der Mischschmelzpunkt des reinen Präparates mit dem Ausscheidungsprodukt der ersten 24-Stunden wurde zu 91,5° (unkorr.) bestimmt, der Schmelzpunkt des reinen Präparates allein zwischen 90 und 91° (unkorr.).

In 2 Versuchen mit niedrigeren Dosen (0,1 g und 0,2 g/kg Hund) war aus dem 24 Stunden-Harn keine nennenswerte Menge einer sauber kristallisierenden Substanz zu isolieren.

Die biologische Wirkung des Ausscheidungsproduktes aus dem Versuch mit 0,3 g/kg Hund wurde an einer Ratte geprüft.

Ein 175 g schweres Tier bekam 0,06 g der Substanz, d. h. ungefähr 0,35 g/kg Ratte mit der Schlundsonde in 7 ccm Wasser. 2 Minuten nach der Applikation befand sich das Tier in Bauchseitenlage und 3 Minuten später setzten schon die für das 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthyltetrahydropyridin charakteristischen Krämpfe ein mit Muskelzittern, Kopfschleudern und Zwerchfellkontraktionen. Nach 24 Stunden war die Ratte tot.

Ein Kontrollversuch mit dem ursprünglichen Präparat hatte bei der gleichen Dosis das gleiche Ergebnis.

Auf Grund des biologischen Versuchs und der Schmelzpunktbestimmung kann man wohl sagen, daß das Ausscheidungsprodukt und die eingegebene Substanz miteinander identisch sind, also eine bestimmte Menge des 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthyltetrahydropyridins den Organismus unverändert passiert und im Harn wieder erscheint.

Besprechung der Ergebnisse.

Die Versuche zeigen, daß 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthylpiperidin eine sedative Wirkung entfaltet und daß bei Ratten, die durch Coffein erregt sind, sogar sonst unterschwellige Dosen eine sedative Wirkung erkennen lassen. Kreislaufuntersuchungen ergeben, daß direkte Herz- und Gefäßschädigungen nicht zu beobachten sind. Im Gegensatz zu diesen Befunden am Starlingschen Herz-Lungenpräparat und Blutdruckversuchen an Katzen in Äthernarkose stehen solche an Katzen in Chloralosenarkose, also mit erhaltenen Gefäßreflexen. Dort lassen sich nach höheren Dosen Blutdrucksenkungen beobachten, die allerdings nach „therapeutischen" Gaben nie aufgetreten sind. Chronische Zufuhr der Substanz bei Ratten und Hunden führte zu keiner erkennbaren Schädigung der Tiere, auch war weder Kumulation noch Gewöhnung zu beobachten. Geringere Besserungen der Gangstörungen beim Hund während des chronischen Versuchs sind wahrscheinlich auf Übung zu beziehen. Die Untersuchung der Ausscheidung ergab den überraschenden Befund, daß von der eingegebenen Substanz nichts wieder ausgeschieden wurde, daß aber innerhalb der ersten 24 Stunden als Ausscheidungsprodukt 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthyltetrahydropyridin festgestellt werden konnte, das also im Organismus durch Dehydrierung des 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthylpiperidins entstanden sein mußte. In den darauffolgenden 24 Stunden wurde keinerlei Substanz mehr ausgeschieden. Die pharmakologische Untersuchung ergab, daß auch das Ausscheidungsprodukt narkotisch wirksam war, so daß an eine gleichzeitige Wirkung beider Substanzen im Körper gedacht werden kann. Allerdings tritt nach Eingabe der dehydrierten Substanz bei der Ratte und Katze mit der narkotischen Wirkung gleichzeitig ein Muskelzittern auf, das sich übrigens bei der Ratte nach höheren als „therapeutischen" Dosen auch nach 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthylpiperidin in ähnlicher Weise beobachten ließ, jedoch nicht bei Katzen, Kaninchen und Hunden. Bei Ratten war der Wirkungseintritt schneller, die Wirkungsdauer kürzer und die Wirkungsstärke dreimal so groß nach der Eingabe des Ausscheidungsproduktes, als nach Dioxodiäthylpiperidin. Diese Befunde lassen daran denken, daß vielleicht nicht nur ein Teil des Effektes dem Dehydrierungsprodukt zukommt, sondern sogar die gesamte Wirkung. Gegen eine solche alleinige Wirkung des Umwandlungsproduktes spricht aber das Fehlen des Muskelzitterns nach Dioxodiäthylpiperidin bei den übrigen Tieren und nach kleinen Dosen bei der Ratte. Bei der Katze ließ sich der Unterschied in bezug auf Wirkungseintritt und -dauer nicht zeigen. Jedoch war auch hier die Stärke der Wirkung beim Ausscheidungsprodukt etwa dreimal so hoch wie bei der noch hydrierten Substanz. Es ist möglich, daß die Ratte eine besondere Empfindlichkeit für die dehydrierte Substanz besitzt, also deshalb schneller darauf reagiert und auch deshalb schon auf die im Organismus durch Dehydrierung entstandenen kleinen Mengen mit Muskelzittern reagiert. Jedenfalls läßt auch die leichte Zerstörbarkeit der dehydrierten Substanz nach oraler Zufuhr im Verein mit

der verhältnismäßig hohen Ausscheidung der dehydrierten Substanz nach Eingabe der hydrierten Verbindung den Gedanken an eine weitgehende Dehydrierung und an eine Beteiligung der dehydrierten Substanz an der Gesamtwirkung aufkommen.

Daß Dehydrierungen von Pyridinderivaten nicht ungewöhnlich sind, haben Warburg und Christian[2] gezeigt.

Zusammenfassung.

1. 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthylpiperidin zeigt nach Zufuhr per os bei verschiedenen Tierarten narkotische Wirkungen. Die Coffeinerregung bei der Ratte wird durch kleinere Dosen beeinflußt als die Spontanaktivität.

2. Bei chronischer Zufuhr ist weder Kumulation noch Gewöhnung festzustellen.

3. Im Harn wird die genannte Substanz nicht ausgeschieden, sondern mit großer Wahrscheinlichkeit 2, 4-Dioxo-3, 3-diäthyltetrahydropyridin, das durch Dehydrierung im Organismus entstanden sein muß.

4. Das Ausscheidungsprodukt ist stärker narkotisch wirksam als die ursprünglich eingegebene Substanz. An eine Beteiligung der dehydrierten Verbindung an der Gesamtwirkung ist zu denken.

[2] Warburg, O., u. W. Christian: Biochem. Z. **287**, 291, 1936.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Pécs.

Über Lokalisation und Wirkungsart des Thyroxins im Tierkörper.

Von

G. Mansfeld.

(Eingegangen am 28. Juni 1939.)

I. Einleitung.

Wenn man Tieren ein Organ (Niere) oder Organfragmente (Leber) entnimmt, um in ihnen den O_2-Verbrauch zu bestimmen, dann dem Tier Thyroxin einspritzt und nach eingetretener Steigerung des Ruhegaswechsels den Eingriff wiederholt, so läßt sich in den post injectionem isolierten Organzellen eine beträchtliche Zunahme des O_2-Verbrauchs nachweisen.

Dieser zuerst von Rohrer[1] an der Niere, dann von Dresel[2] an Leberzellen ausgeführte Versuch zeigt, daß die Thyroxinsteigerung der Verbrennungen auch nach Abtrennung vom Nervensystem fortbesteht, was dafür spricht, daß das Thyroxin nicht wie manche Autoren annehmen, durch Erregung von Stoffwechselzentren, sondern unmittelbar in den Organzellen die Verbrennungen steigert. Wenn sich diese Folgerung als richtig erweist, so ist die Prüfung des O_2-Verbrauchs isolierter Organe vor und nach Thyroxin die geeignete Methode, um festzustellen, in welche Organzellen das Thyroxin einzudringen vermag, um in ihnen unmittelbar die Verbrennungen zu steigern. Dies festzustellen, also die Lokalisation der Thyroxinwirkung im Tierkörper zu ermitteln, schien uns notwendig, um näheren Einblick in die Wirkungsart des Thyroxins zu gewinnen. Die Untersuchungen, über welche hier berichtet werden soll, hatten also zum Gegenstand, den O_2-Verbrauch isolierter Organe festzustellen, welche vor und nach Thyroxinzufuhr dem Tierkörper entnommen wurden.

Um aber zu sehen, ob der gesteigerte O_2-Verbrauch der nach Thyroxinzufuhr isolierten Organe in der Tat die Folge einer peripheren Thyroxinwirkung ist, und nicht die Nachwirkung gesteigerter, zentralnervöser Impulse darstellt, sollte vorerst die Wirkung zentraler Erregungen auf die Verbrennungen an Organen geprüft werden, die während maximaler zentraler Erregungen vom Nervensystem abgetrennt und dem Körper entnommen wurden.

[1] Rohrer: Biochem. Z. **145**, 154 (1924). — [2] Dresel: Klin. Wschr. **1928**, S. 504.

2. Läßt sich eine Nachwirkung zentraler Impulse auf den O_2-Verbrauch isolierter Organe nachweisen?

Die Erfahrung lehrt, daß nach Abtrennung der Organe vom Zentralnervensystem die Wirkung zentralnervöser Impulse in kürzester Zeit erlischt. Das sehen wir nach Ausschaltung der Vasomotorenzentren am Sinken des Blutdrucks, nach Abtrennen der Wärmezentren am Temperatursturz, nach Durchtrennung extrakardialer Nerven an der veränderten Herztätigkeit. So schien es wahrscheinlich, daß eine zentrale Erregung auch in ihrer Wirkung auf die Verbrennungen sofort erlöschen müsse, sobald das Organ vom Zentrum abgetrennt wird. Nachdem aber das Erlöschen zentraler Impulse nach der Nervendurchtrennung bisher nur für die Funktion, nicht aber für Stoffwechselvorgänge erwiesen ist, mußte geprüft werden, ob nicht die gesteigerte Innervation in den Organzellen eine Nachwirkung hinterläßt, welche auch noch nach Durchtrennung der Nerven einen gesteigerten O_2-Verbrauch bedingt?

Als Versuchstiere dienten Meerschweinchen und als Testorgan wählten wir den Muskel, weil seine gesteigerte Innervation leicht festzustellen ist und weil wir[3] zeigen konnten, daß der O_2-Verbrauch unversehrter Muskeln geprüft nach Warburg in reinem O_2 sehr konstant ist und daß symmetrische Muskeln gut vergleichbare Werte des O_2-Verbrauchs zeigen.

Die gesteigerte Innervation der Muskeln hatten wir teils durch Verabreichung der zentralen Krampfgifte Strychnin und Cardiazol, teils durch Einwirkung niederer Temperaturen herbeigeführt, welche ein gut wahrnehmbares Muskelzittern von einigen Stunden verursachten. Für die letzteren Versuche verwendeten wir Tiere, die ihrer Schilddrüse beraubt waren, weil bekanntlich dieses Organ in der Kälte Funktionsänderungen aufweist[4], was möglicherweise zu einer Trübung der Versuchsergebnisse hätte führen können.

Als Muskel verwendeten wir die beiden Gastrocnemien, von denen der eine vor, der andere während der gesteigerten Innervation dem Körper entnommen, in 2-Stundenversuchen auf O_2-Verbrauch untersucht wurde. Das Ergebnis der Versuche sehen wir in Tabelle 1.

Wir sehen, daß weder eine durch Strychnin oder Cardiazol gesetzte und mit heftigen Muskelkrämpfen einhergehende zentrale Erregung noch durch kalte Außentemperatur herbeigeführtes Muskelzittern Änderungen im Muskel herbeiführt, welche sich nach Abtrennung vom Nervensystem in einem gesteigerten O_2-Verbrauch äußert. In sechs von acht Versuchen liegen die Unterschiede innerhalb der Fehlergrenze und der um 17 bzw. 14% verminderte O_2-Verbrauch in Versuch 1 und 2 dürfte durch die bekannte glykogenmobilisierende Strychninwirkung bedingt sein.

---

[3] Mansfeld, G., u. I. Scheff-Pfeifer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 585 (1938). — [4] Cramer, W.: Fever, heat regulation climate, London 1928.

Tabelle 1. Die Wirkung zentraler Erregungen auf den O_2-Verbrauch isolierter Meerschweinchengastrocnemien.

Versuch Nr.	Datum 1937	Zentrale Erregung durch	Wirkungsdauer	Muskelgewicht g	O_2-Verbrauch je g und Stunde cmm	Differenz %	Körpertemperatur des Tieres vor der Muskelentnahme °C
1	24. IX.	—	—	1,07	244,5		38,6
		3,2 mg Strychnin je kg	25 Min. Krämpfe	1,11	202,0	— 17	38,9
2	25. IX.	—	—	0,90	258,0		38,3
		3,2 mg Strychnin je kg	22 Min. Krämpfe	0,91	221,0	— 14	37,2
3	27. IX.	—	—	1,01	244,8		37,6
		3,2 mg Strychnin je kg	10 Min. Krämpfe	1,07	239,4	— 2	37,2
4	28. IX.	—	—	1,01	253,5		38,5
		3,2 mg Strychnin je kg	20 Min. Krämpfe	1,00	234,5	— 7	37,6
5	29. IX.	—	—	0,91	238,0		38,2
		70 mg Cardiazol je kg	17 Min. Krämpfe	0,87	259,0	+ 8	37,7
6	30. IX.	—	—	1,20	196,6		38,8
		70 mg Cardiazol je kg	26 Min. Krämpfe	1,18	204,7	+ 4	38,6
7	15. VII.	—	—	1,92	184,2		37,6
		2–4° C	6 Std.	1,87	187,0	0	37,6
8	15. VII.	—	—	1,71	179,5		37,8
		2–4° C	6 Std.	1,85	176,6	0	37,6

Die Versuche bieten also keine Stütze für die Annahme, nach welcher zentrale Erregungen durch eine Art Dauerwirkung auch noch nach Abtrennung der Organe vom Nervensystem die Verbrennungen beschleunigen, und so kann der gesteigerte O_2-Verbrauch isolierter Organe nach Thyroxinzufuhr nur durch die unmittelbare Wirkung dieses Hormons auf die Zelloxydationen bedingt sein. Der Nachweis gesteigerter Verbrennungen isolierter Organzellen nach Thyroxinzufuhr erscheint demnach als zuverlässige Methode, um das Eindringen dieses Hormons in die verschiedenen Organe festzustellen, wodurch die Möglichkeit gegeben ist, seine Lokalisation im Tierkörper sowie die Art seiner Stoffwechselwirkung in den verschiedenen Organen näher kennenzulernen. Dies war der Zweck vorliegender Untersuchungen.

3. Wirkung des Thyroxins auf die Verbrennungsvorgänge in den vegetativen Organen.

Die Versuche wurden an Kaninchen ausgeführt. Zu den Untersuchungen verwendeten wir die Leber und von symmetrischen vegetativen Organen Parotis, Niere und Hoden.

Für die Entnahme von Leberstückchen wurde ein ganz kleiner Bauchschnitt von 2—3 cm Länge gemacht und mittels eines Conchotoms aus verschiedenen Leberlappen 4—5 kleine runde Leberstückchen im Gewicht von etwa 0,12 g herausgeschnitten. Dieses kleine in der Rhynologie verwendete Instrument bewährt sich sehr gut, denn die Blutung aus der Leber ist minimal und steht augenblicklich still. Die Bauchwunde wird mit 2—3 Nähten geschlossen und die Haut mit kleinen Häkchen vereinigt.

Alle Eingriffe geschahen unter strenger Asepsis und auch die weitere Behandlung der entnommenen Organe und Organstücke sowie die Warburgsche O_2-Bestimmung erfolgte unter aseptischen Kautelen. Nach Entnahme des Organs bekamen die Tiere das Thyroxin immer subcutan, und zwar in Mengen von 0,2—1,0 mg. Wir verwendeten ausschließlich das synthetische Thyroxin von Hoffmann-La-Roche. 24—48 Stunden nach der Thyroxingabe wurde der erste Eingriff wiederholt. Für die Bestimmung des O_2-Verbrauchs nach Warburg verwendeten wir die Organe unzerkleinert, suspendiert in reinem Sauerstoff, wie wir es bereits beschrieben haben[3].

Bevor wir unsere an Thyroxintieren gewonnenen Ergebnisse mitteilen, möchten wir in Tabelle 2 zeigen, wieweit die O_2-Werte der geprüften Organe übereinstimmen, wenn sie ohne Thyroxingabe mit einer Zwischenzeit von 24—48 Stunden herausgeschnitten werden.

Tabelle 2. O_2-Verbrauch isolierter Organe von Kaninchen, entnommen mit einer Zwischenzeit von 24—48 Stunden.

Versuch Nr.	Datum	cmm O_2-Verbrauch je g und Stunde 1	2	Differenz %	Zwischenzeit Std.
		Leber.			
9	5. II. 1938	530,0	471,0	— 11	48
10	26. I. 1938	674,3	619,9	— 8	24
11	15. XII. 1937	479,0	423,0	— 11	24
12	20. XII. 1937	529,5	532,0	+ 0,4	24
13	22. VI. 1938	593,5	554,5	— 6,5	24
14	23. VI. 1938	623,0	651,8	+ 4,6	24
15	24. VI. 1938	669,7	687,0	+ 2,5	24
		Niere.			
16	30. VI. 1938	1103,5	1006,4	— 8,2	24
17	8. VII. 1938	1091,7	1083,4	— 0,7	24
18	13. VII. 1938	788,4	780,5	— 1,0	24
		Parotis.			
19	24. I. 1939	417,0	412,2	— 1.0	48
20	24. I. 1939	397,4	355,9	— 1,0	48
		Hoden.			
21	24. I. 1939	333,2	354,4	+ 6	48
22	24. I. 1939	196,5	180,6	— 8	48

Meistens zeigt sich eine Verminderung der Verbrennung, welche aber 11 % nicht überschritt. In den wenigen Versuchen, in welchen eine Beschleunigung stattfand, lagen die Ausschläge zwischen 0,4—6 %.

Im folgenden berichten wir über die Änderung des O_2-Verbrauchs isolierter Organe nach Thyroxingaben. Auch in diesen Versuchen wurde die Bestimmung des O_2-Verbrauchs 2 Stunden lang fortgesetzt und alle 30 Minuten abgelesen. Der gesteigerte O_2-Verbrauch nach Thyroxin zeigt sich bei unserer Methode nicht immer schon in der ersten Periode, sondern oft erst im späteren Verlauf des Versuchs, was vielleicht mit der langsameren Gasdiffusion zusammenhängt, mit der man am unzerkleinerten Organ zu rechnen hat. In der folgenden Tabelle sind die erhaltenen Maximalwerte des O_2-Verbrauchs angeführt und vermerkt, ob diese in der ersten oder zweiten Stunde zu beobachten waren. Die vor der Thyroxingabe erhaltenen und in der Tabelle angeführten Werte sind die Mittelwerte der beiden gut übereinstimmenden Stundenwerte.

Tabelle 3. O_2-Verbrauch isolierter Organe von Kaninchen vor und 24—48 Stunden nach subcutaner Injektion von 1 mg Thyroxin.

Versuch Nr.	Datum	cmm O_2-Verbrauch je g u. Std. vor Thyroxin	cmm O_2-Verbrauch je g u. Std. nach Thyroxin	Änderung %	Maximale Steigerung in der	Zwischenzeit in Stunden
		Leber.				
23	21. XII. 1937	400	524	+ 31	1. Std.	24
24	21. XII. 1937	406	634	+ 57	1. „	24
25	22. XII. 1937	527	517	± 0	—	24
26	13. I. 1938	285	394*	+ 38	1. Std.	48
27	13. I. 1938	365	460*	+ 26	1. „	48
28	15. I. 1938	271	379*	+ 39	1. „	24
29	15. I. 1938	344	515*	+ 48	1. „	24
30	24. I. 1938	507	625	+ 23	1. „	24
		Parotis.				
31	20. II. 1939	301	336	+ 11	1. Std.	24
32	20. II. 1939	270	331	+ 22	2. „	24
33	20. II. 1939	209	361	+ 72	1. „	24
34	17. I. 1939	195	315	+ 61	2. „	24
		Hoden				
35	30. I. 1939	270	263	± 0	—	48
36	30. I. 1939	200	275	+ 37	1. Std.	48
37	7. II. 1939	251	393	+ 56	1. „	48
38	7. II. 1939	195	308	+ 58	1. „	48
		Niere.				
39	9. III. 1939	727	854	+ 17	1. Std.	48
40	9. III. 1939	654	797	+ 21	1. „	48

* 0,2 mg Thyroxin subcutan.

Wir sehen, daß Thyroxin an allen untersuchten vegetativen Organen eine bedeutende Steigerung des O_2-Verbrauchs herbeiführt, welche auch nach Isolierung der Organe fortbesteht.

4. Thyroxinwirkung am Skeletmuskel.

Seitdem die Beschleunigung der Verbrennungen im Tierkörper durch Thyroxin bekannt ist, wurde kaum daran gezweifelt, daß der Hauptanteil der gesteigerten Wärmebildung auf die Muskulatur fällt. Daß unter gewissen Bedingungen das Thyroxin am isolierten Muskel den O_2-Verbrauch steigert, wurde für den Froschmuskel zuerst von Ahlgren[5] im anaeroben Methylenblauversuch, von U. S. v. Euler[6] nach Warburg und von uns[7] am Warmblütermuskel gezeigt. In all diesen Versuchen handelte es sich um jene akute Thyroxinwirkung, welche, wie wir[7] zeigen konnten, an geschädigten Zellen zu beobachten ist und nicht identisch mit jener mehr physiologischen Thyroxinwirkung ist, welche im unversehrten Organismus immer erst nach einer Latenz von 24 Stunden zustande kommt. Die näheren Umstände dieses Wirkungsunterschiedes werden in der folgenden Arbeit ausführlich dargetan.

Ob diese im Organismus beobachtete physiologische Thyroxinwirkung im quergestreiften Muskel die Verbrennungen steigert, ist bisher systematisch nicht untersucht worden, und so hatten wir im folgenden unsere eben mitgeteilten Versuche auch auf den Skeletmuskel ausgedehnt und den O_2-Verbrauch symmetrischer Muskeln geprüft, von welchen der eine unmittelbar vor der Thyroxingabe, der andere 24—48 Stunden nachher isoliert wurde. Da wir aus vielen Vorversuchen wissen, daß die beiden Gastrocnemien von Meerschweinchen und Kaninchen, mit einer Zwischenzeit von 1—2 Tagen dem Körper entnommen, gleiche Mengen O_2 verbrauchen, hatten wir unsere Versuche an den Gastrocnemien dieser Tiere ausgeführt. Auch hier wurde der O_2-Verbrauch nach Warburg in 2-Stunden-Versuchen bestimmt. Das Ergebnis ist in Tabelle 4 zusammengestellt. Die angeführten O_2-Werte sind das Mittel der beiden gut übereinstimmenden Stundenwerte.

Tabelle 4. O_2-Verbrauch isolierter Muskeln vor und nach subcutaner Injektion von Thyroxin.

Versuch Nr.	Datum	cmm O_2-Verbrauch je g u. Stunde vor Thyroxin	cmm O_2-Verbrauch je g u. Stunde nach Thyroxin	Änderung %	Zwischenzeit Stunden	Versuchstier
40	11. XI. 1937	162,6	159,2	— 2,0	24	Kaninchen
41	11. XI. 1937	151,5	175,2	+ 15	24	
42	20. XI. 1937	182,9	186,7	+ 1,6	48	
43	7. III. 1939	135,0	141,0	+ 4,4	24	
44	7. III. 1939	195,0	184,5	— 5,0	24	
45	2. XII. 1937	265,8	257,0	— 3,0	24	Meerschweinchen
46	2. XII. 1937	225,0	251,0	+ 11	24	
47	2. XII. 1937	218,0	222,0	+ 1,8	24	
48	4. XII. 1937	257,5	243,0	— 5,4	48	
49	4. XII. 1937	259,0	266,0	+ 2,7	48	

[5] Ahlgren, G.: Skand. Arch. Physiol. **47**, Suppl., 225 (1925). — [6] Euler, U. S. v.: Klin. Wschr. **1933**, S. 671. — [7] Mansfeld, G.: Ebenda **1935**, S. 884.

Im Gegensatz zu den vegetativen Organen zeigt der quergestreifte Muskel keine Steigerung der Verbrennungen nach Thyroxin. Nur in zwei Versuchen fanden wir eine Steigerung um 11 bzw. 15%, Werte, die nur wenig die Fehlergrenze überschreiten. Die anderen Versuche ließen jegliche Steigerung vermissen.

Dieses Ergebnis steht im Einklang mit Versuchen, über welche Nils Alwall und I. Scheff-Pfeiffer [8] von hieraus berichteten. Es sollte damals der erstmalig von Alwall [9] beschriebene Synergismus Thyroxin-α-Dinitrophenol am isolierten Hundebein geprüft werden. Zu diesem Zweck wurden die Hinterbeine teils normaler, teils thyroxinvorbehandelter Hunde künstlich durchströmt und ihr O_2-Verbrauch vor und nach Zufügen von α-Dinitrophenol bestimmt.

Dabei zeigte sich schon, daß die isolierten Muskeln der thyroxinvorbehandelten Tiere keineswegs mehr O_2 verbrauchten als die Muskeln normaler Hunde. Daß aber das Thyroxin dennoch nicht unwirksam auf den isolierten Muskel war, ging daraus hervor, daß das α-Dinitrophenol sowie auch das Methylenblau an den vorbehandelten Muskeln den O_2-Verbrauch viel stärker in die Höhe trieben als am normalen Tier. Die Verhältnisse ersehen wir aus Tabelle 5.

Tabelle 5. O_2-Verbrauch der isolierten Hinterbeine von normalen und mit Schilddrüse gefütterten Hunden, sowie seine Änderung durch α-Dinitrophenol (Dnph.) und Methylenblau (Mb.) nach Alwall und Scheff-Pfeifer [8].

ccm. O_2-Verbrauch je kg und Minute		Prozentuelle Steigerung des O_2-Verbrauchs durch Dnph. bzw. Mb.	
Normaltiere	Schilddrüsengefütterte Tiere	an Normaltieren	an schilddrüsengefütterten Tieren
6,2	3,1	73	220
3,9	3,7	118	170
4,6	4,5	98 Dnph.	176 Dnph.
5,7	4,5	124	
5,3	4,7	102	227
3,4	5,7	71	249
4,4	5,4	116 Mb.	208 Mb.
4,6		149	237
		120	
Mittel: 4,7	4,5	108	212

Unsere eben mitgeteilten an den symmetrischen Muskeln ein und desselben Tieres ausgeführten Versuche zeigen nun ebenfalls, daß der O_2-Verbrauch des Muskels nach Thyroxinzufuhr unverändert bleibt, was für das Verständnis der Wirkungsart des Thyroxins im Organismus von großer Wichtigkeit ist, worauf aber erst in einer späteren Arbeit näher eingegangen werden kann.

[8] Alwall, Nils, u. I. Scheff-Pfeifer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 296 (1937). — [9] Alwall, Nils: Skand. Arch. Physiol. **72**, Suppl. (1935).

Diese Unwirksamkeit des Thyroxins am Skeletmuskel stand aber im Widerspruch mit früheren Versuchen, in welchen wir [10] zeigen konnten, daß Thyroxin den O_2-Verbrauch von Froschmuskeln zu steigern vermag. Für die Aufklärung dieses Widerspruchs war der Befund von Wichtigkeit (s. Tabelle 5), daß die Steigerung der Verbrennungen durch Dinitrophenol und durch Methylenblau am Muskel thyroxinvorbehandelter Tiere viel stärker ausfiel als am Normaltier. Diese Tatsache wies nämlich darauf hin, daß die Thyroxinwirkung am Muskel nur dann in Erscheinung tritt, wenn ein Oxydationsreiz die Verbrennungen steigert und äußert sich darin, daß dieser Reiz stärker zur Geltung kommt, was mit der Theorie Alwalls [9] über den gesteigerten Dehydrierungsdruck durch Thyroxin sehr gut übereinstimmt. Nun wurden aber jene Versuche, in denen wir die Wirksamkeit des Thyroxins am Froschmuskel zeigen konnten, so ausgeführt, daß wir den O_2-Verbrauch der Muskeln nach Warburg bei 38° C ausführten, was aber für den Froschmuskel eine starke Beschleunigung der Verbrennungsvorgänge bedeutet, also einen Oxydationsreiz darstellt, was das Wirksamwerden des Thyroxins unter diesen Umständen erklären würde.

Um zu sehen, ob diese Erklärung richtig ist, d. h. ob die Wärme ähnlich dem Dinitrophenol und dem Methylenblau die latente Thyroxinwirkung in Erscheinung treten läßt, hatten wir die Gastrocnemien von Ranae esculentae vor und nach Thyroxinverabreichung herausgeschnitten und in der einen Versuchsreihe bei 20° C, in einer zweiten bei 38° C auf O_2-Verbrauch geprüft. Die Entnahme der Gastrocnemien geschah mit einer Zwischenzeit von 2 Tagen, an denen das Tier je 0,25 mg Thyroxin subcutan bekam.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 zusammengestellt.

Wir sehen in der Tat, daß während bei einer Versuchstemperatur von 20° C die Muskeln vor und nach der Thyroxinbehandlung bis auf einen Versuch die gleichen Werte liefern, fanden wir bei der — für den Froschmuskel unnatürlich hohen Temperatur von 38° C in fast allen Versuchen eine sehr ausgesprochene Thyroxinsteigerung der Verbrennungen.

Die Versuche erbrachten also die bemerkenswerte Tatsache, daß Thyroxin im Muskel nicht wie in den vegetativen Organen den Ruhegaswechsel beschleunigt, sondern in ihm nur Bedingungen schafft, durch welche Oxydationsreize wie α-Dinitrophenol, Methylenblau oder Erhöhung der Temperatur stärker wirksam werden, während die Thyroxinsteigerung des Ruheumsatzes von den vegetativen Organen bestritten wird.

In voller Übereinstimmung mit dieser Feststellung steht der Befund von Abderhalden und Wertheimer [11], nach welchem das Glykogen unter dem Einfluß des Thyroxins im dauernd tätigen Herzen schon erheb-

---

[10] Mansfeld, G., u. G. Horváth: Pflügers Arch. **235**, 520 (1935). — [11] Abderhalden, E., u. Wertheimer: Z. exper. Med. **72**, 472 (1930).

Tabelle 6. O_2-Verbrauch der beiden Froschgastrocnemien vor und 48 Stunden nach Injektion von Thyroxin (2 · 0,25 mg).

Versuch Nr.	Datum	cmm O_2-Verbrauch je g und Stunde		Steigerung	Versuchstemperatur
		vor Thyroxin	nach Thyroxin	%	°C
50	9. IV. 1937	207,2	242,6	17,5	
51	10. IV. 1937	235,4	270,2	15	
52	10. IX. 1937	197,6	242,6	22	
53	28. I. 1939	150,0	181,2	21	
54	28. I. 1939	159,4	213,6	34	
55	28. I. 1939	158,2	180,3	14	
56	28. I. 1939	132,5	131,7	0	38
57	11. II. 1939	132,3	171 6	30	
58	11. II. 1939	164,2	180,1	10	
59	11. II. 1939	179,5	164,5	0	
60	11. II. 1939	158,6	202,1	27	
61	11. II. 1939	150,3	177,2	18	
62	1. II. 1939	64,2	67,4	4	
63	1. II. 1939	63,8	65,4	0	
64	1. II. 1939	60,1	69,6	15	
65	1. II. 1939	63,4	70,0	9	
66	1. II. 1939	75,6	78,4	3	20
67	4. II. 1939	73,1	72,3	0	
68	4. II. 1939	58,9	60,2	0	
69	6. II. 1939	52,0	50,4	0	
70	6. II. 1939	60,0	56,7	0	

lich vermindert, im ruhenden Muskel dagegen noch unverändert ist. Auch die eben erschienene Arbeit von Heinrich Schumann[12], nach welcher in der Ruhe fast unwirksame Thyroxinmengen bei erhöhter Arbeitsleistung im Herzen zu einer weitgehenden Verminderung an Phosphagen, Glykogen und Adenylpyrophosphat führen, zeugt für die latente Thyroxinwirkung im Muskel, welche durch Oxydationsreize, also offenbar auch durch erhöhte Arbeitsleistung in Erscheinung tritt. Im gleichen Sinne sprechen die interessanten Versuche von Chachovitsch[13], in welchen nach Schilddrüsenentfernung nicht nur der Ruheumsatz, sondern der sogenannte Gipfelstoffwechsel bei exzessiver Kälte gemessen wurde. Es zeigte sich dabei, daß nach einer gewissen Zeit der Ruheumsatz kaum mehr herabgesetzt ist, aber das Maximum der Verbrennungen viel geringere Werte zeigt als vor der Schilddrüsenentfernung.

Zusammenfassung.

1. Um die Lokalisation der Thyroxinwirkung im Tierkörper zu ermitteln, wurde vor und nach Thyroxinzufuhr der O_2-Verbrauch isolierter, symmetrischer Organe bestimmt.

---

[12] Schumann, Heinrich: Z. exper. Med. **105**, 577 (1939). — [13] Chachovitsch, X.: C. r. Soc. Biol. Paris **100**, 1220 (1929).

2. Durch Vorversuche konnte gezeigt werden, daß Muskeln, welche während heftigster Cardiazol- bzw. Strychninkrämpfe oder am schilddrüsenlosen Tier während stundenlangem Kältezittern isoliert werden, keinen gesteigerten O_2-Verbrauch aufweisen, so daß die nach Thyroxinzufuhr beobachtete Oxydationsbeschleunigung isolierter Organe nicht als Nachwirkung einer zentralnervösen Erregung, sondern als periphere Wirkung des Thyroxins auf die Zelloxydationen angesehen werden muß.

3. Die an vegetativen Organen einerseits, an Skeletmuskeln andererseits ausgeführten Untersuchungen zeigten, daß während alle untersuchten vegetativen Organe (Leber, Niere, Parotis, Hoden) 24—48 Stunden nach der Thyroxinzufuhr dem Körper entnommen eine beträchtliche Steigerung der Verbrennungen zeigten, der O_2-Verbrauch des Muskels unverändert blieb, und daß die Thyroxinwirkung in diesem Organ sich nur darin äußerte, daß Beschleuniger der Verbrennungen wie α-Dinitrophenol, Methylenblau oder die Erwärmung des Froschmuskels auf 38° C nach Thyroxinzufuhr viel wirksamer sind, als an den Muskeln unbehandelter Tiere.

4. Die nach Thyroxin beobachtete Steigerung des Ruheumsatzes wird also von den vegetativen Organen und nicht von der Muskulatur bestritten.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Pécs.

Die Wanderung des Thyroxins durch Nerven und ihre Bedeutung für die Katalyse der Zellatmung.

Von

G. Mansfeld.

(Eingegangen am 28. Juni 1939.)

I. Einleitung.

Frühere Untersuchungen über den Angriffspunkt und die Wirkungsart der verbrennungsfördernden Thyroxinwirkung im Tierkörper zeigten uns [1], daß das Thyroxin in der Organzelle selbst angreift, aber nicht unmittelbar die Verbrennungen, sondern wie schon von früheren Autoren vermutet wurde [2], die anaeroben Spaltungsvorgänge beschleunigt und daß die so entstandenen Spaltprodukte erst zu einer Steigerung der Verbrennungen führen. Für den peripheren Angriffspunkt sprach u. a. die Tatsache, daß isolierte Organe von Tieren, welche mit Thyroxin vorbehandelt waren, einen gesteigerten O_2-Verbrauch zeigten [3], für die Annahme einer primären Beschleunigung von Gärungsvorgängen die Beobachtung, daß isolierten Organzellen zugefügtes Thyroxin nur dann die Verbrennungen steigerte, wenn die Bedingungen für Spaltungsvorgänge gegeben sind, entweder in O_2-armer Umgebung [4] oder durch Lähmung der Pasteurschen Reaktion [1], der zufolge bekanntlich selbst bei reichlicher O_2-Versorgung die Gärungsvorgänge ungehindert weitergehen. Obschon diese Versuche keinen Zweifel ließen, daß das Thyroxin die Verbrennungen unmittelbar in der Zelle beschleunigt, war noch zu prüfen, ob nicht das Thyroxin außer dieser peripheren Zellwirkung auch noch mit zentralem Angriffspunkt die Verbrennungen in den Organzellen beschleunigt. Zu diesem Zweck hatten wir [1] an Kaninchen vor und nach Thyroxinbehandlung je eine isolierte Niere auf ihren O_2-Verbrauch nach Warburg geprüft und die Versuche an Tieren wiederholt, denen 1—2 Wochen vor dem Versuch beide Nieren entnervt wurden. Das Ergebnis war, daß, während bei intakter Nervenversorgung die nach der Thyroxinbehandlung isolierte Niere einen um 18—37 % gesteigerten O_2-Verbrauch zeigte, der gleiche Versuch an den denervierten Nieren zu keiner Steigerung der Verbrennungen führte.

Während also auf der einen Seite das Fortbestehen der Thyroxinwirkung nach Isolierung des Organs, sowie die Versuche, in welchen zugefügtes Thyroxin zu isolierten Zellen eine Beschleunigung der Ver-

[1] Mansfeld, G.: Klin. Wschr. **1935**, S. 884. — [2] Haffner: Ebenda **1927**, S. 1932. — [3] Rohrer: Biochem. Z. **145**, 154 (1924); Dresel, K.: Klin. Wschr. **1928**, S. 504. — [4] Euler, U. S.v.: Ebenda **1933**, S. 671.

brennungen herbeiführt (Ahlgren[5], Euler[3], Mansfeld[1], Haarmann[6] usw.), den peripheren Angriffspunkt erwiesen, fanden wir im Widerspruch dazu, daß nach Nervendurchtrennung die Thyroxinwirkung in den Organzellen vermißt wird, daß also für das Zustandekommen der peripheren — d.h. auch nach Isolierung des Organs fortbestehenden Thyroxinwirkung die Nervenversorgung Vorbedingung ist. Für die Erklärung dieses Widerspruchs schien uns die Annahme geeignet, daß das Thyroxin vielleicht nicht unmittelbar aus dem Blut in die Organzellen eindringt, sondern zunächst vom Zentralnervensystem aufgenommen wird und ähnlich dem Tetanustoxin (Meyer und Ransom[7]) im peripheren Nerven wandernd in die Organzellen gelangt.

Im Einklang mit dieser Hypothese stand unsere frühere Feststellung, nach welcher das Thyroxin nicht unmittelbar die Verbrennungen, sondern die Gärungen beschleunigt und somit vom Blut aus eindringend an der Zelloberfläche, dem Sitz der Verbrennungen, seine Wirkung nicht entfalten könnte, weil das Substrat seiner Wirkung — die Gärung — dort durch die Atmung unterdrückt wird. Soll das Thyroxin — so dachten wir — in der Zelle wirksam werden, so muß es mit Umgehung der Zelloberfläche in jenes sauerstoffarme Innere gelangen, wo der Nerv mit der Zelle sich vereint und wo die Spaltungen sich vollziehen — wissen wir ja aus der Muskelphysiologie, daß durch den Nervenreiz nicht unmittelbar die Verbrennungen, sondern die Spaltungen in Gang gesetzt werden. Eine weitere Stütze unserer Annahme erblickten wir in der Tatsache, daß das Thyroxin im Organismus nicht sofort, sondern erst nach einer Latenz von etwa 20—24 Stunden seine oxydationssteigernde Wirkung entfaltet, was seine Erklärung darin finden würde, daß das Thyroxin lange Nervenstrecken zu hinterlegen hätte, bis es in die Zelle gelangt. Auch der Befund von Schittenhelm und Eisler[8], nach welcher durch Verabreichung von Thyroxin der Jodgehalt von Zwischenhirn und Tuber cinnereum ansteigt, sprach für eine Affinität der Nervensubstanz gegenüber dem Thyroxin.

Die erste experimentelle Stütze dieser Hypothese erbrachten unsere Versuche[9], welche zeigten, daß das Thyroxin in der Tat durch den Nerven in Organzellen, und zwar in die Zellen des Froschmuskels einzudringen vermag: Tauchte nämlich von den beiden, mit dem Gastrocnemius in Verbindung stehenden Froschischiadici das zentrale Ende des einen in reine Ringerlösung des anderen in eine sehr verdünnte Thyroxinlösung (10^{-12} g je Liter), so ließ sich nach 30—40 Stunden im Muskel des thyroxinbehandelten Nerven ein um 20—30% gesteigerter O_2-Verbrauch nachweisen. Eine Nachuntersuchung dieses Versuchs durch Jancsó und Novák[10] erbrachte eine Bestätigung unserer Ergebnisse, indem sie eine

[5] Ahlgren: Skand. Arch. Physiol. **47**, Suppl., 225 (1925). — [6] Haarmann, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 167 (1935). — [7] Meyer u. Ransom: Ebenda **49**, 369 (1903). — [8] Schittenhelm u. Eisler: Klin. Wschr. **1932**, S. 9. — [9] Mansfeld, G., u. G. Horvath: Pflügers Arch. **235**, 520 (1935). — [10] Jancsó u. Novák: Wirkung des Thyroxins auf den Froschmuskel (ungarisch), Orvosi Hetilap **1935**, S. 858.

Steigerung der Verbrennungen bis zu 50 % nachweisen konnten und weiterhin die sehr wichtige Tatsache feststellten, daß das Eintauchen des Nerven in wirksame Konzentrationen von α-Dinitrophenollösungen nicht imstande war die Verbrennungen in der Muskelzelle zu steigern, womit der mögliche Einwand, daß nicht das in die Muskelzellen eingewanderte Thyroxin, sondern die durch Thyroxin im peripheren Nerven gesetzte Oxydationssteigerung und die dadurch bedingte Nervenerregung die Verbrennungen im Muskel steigerte, widerlegt war.

Diese Bestätigung und Ergänzung unserer Versuche bestärkten uns in der Annahme, daß der periphere Nerv die Fähigkeit besitzt Thyroxin aufzunehmen und weiterzuleiten, wie es bisher nur für körperfremde Giftstoffe bekannt war. Daraus ergab sich die weitere Aufgabe, die näheren Bedingungen dieser Nervenwanderung sowohl im Kalt- wie im Warmblüternerven zu ermitteln und weiterhin zu prüfen, ob das Thyroxin auch unter physiologischen Bedingungen im Organismus diesen Weg einschlägt, also mit Umgehung des Blutweges durch die Nerven in die Organzellen gelangt.

Über unsere seit nunmehr 5 Jahren diesen Fragen gewidmeten Untersuchungen möchten wir im folgenden berichten.

2. Wanderung des Thyroxins im Kaltblüternerven.

Unsere schon mitgeteilten und von Jancsó und Novák (l. c.) bestätigten Versuche sollten durch neue ergänzt werden. Jene Versuche zeigten, daß, wenn von den beiden Ischiadicus-Gastrocnemius Froschpräparaten das zentrale Nervenende des einen in Ringerlösung, des anderen in eine sehr verdünnte Thyroxinlösung taucht, so findet nach 30—40 Stunden im Muskel des thyroxinbehandelten Nerven — falls dieser seine Erregbarkeit bewahrte — ein wesentlich gesteigerter O_2-Verbrauch statt. Das Gelingen der Versuche ist — wie wir schon mitteilten — jahreszeitlichen Schwankungen unterworfen und wahrscheinlich auch von der Beschaffenheit des Tiermaterials bedingt, nachdem die isolierten Nerven nach längerer Gefangenschaft der Frösche nicht gut die lange Versuchszeit von 30—40 Stunden in der feuchten Kammer ertragen. Eine, das Gelingen der Versuche erschwerende Fehlerquelle ist auch nach unserer Erfahrung, wenn die zur Lösung des Thyroxins verwendete Ringerlösung nicht genügend alkalisch ist. Sie muß Phenolphthalein schwach röten, denn bei niedrigerem p_H fällt das Thyroxin offenbar aus. Außer Berücksichtigung dieser Erfahrungen haben wir auch unsere ursprüngliche Methodik in einigen Punkten abgeändert.

Die Abänderung bestand einmal darin, daß wir den Versuch am ganzen Frosch in der Weise ausführten, daß Nerven und Muskel in situ blieben: Nach einer Laparatomie wird der ganze Plexus Ischiadicus nahe der Wirbelsäule durchschnitten, das zentrale Ende des einen in mit Ringerlösung, des anderen in mit Thyroxin-Ringer befeuchtete Watte gepackt, die Packung mit dünnem Faden umschlungen und mit einer Naht an die

Muskulatur befestigt. Nach Schließen der Bauchwunde kommen die Tiere in ein kühles Zimmer für 30 40 Stunden. Bei dieser Versuchsart blieben die Nerven mit wenig Ausnahmen erregbar.

Eine weitere Abänderung der Methodik bestand darin, daß wir die Muskeln nach unserem kürzlich mitgeteilten Verfahren [11] unzerkleinert in reinen O_2 eingehängt auf O_2-Verbrauch prüften.

Nach jedem Versuch hatten wir die Erregbarkeit des Muskels von seinem Nerven aus geprüft. In wenigen Versuchen war eine Steigerung der Verbrennungen auch dann nachweisbar, wenn der Nerv zu Ende der „Wanderungszeit" unerregbar gefunden wurde, was wahrscheinlich so zu erklären ist, daß der Nerv erst in den letzten Stunden des Versuchs seine Erregbarkeit verlor, zu einer Zeit, da das Thyroxin wahrscheinlich schon den Muskel erreichte. Solche Versuche hatten wir in die Tabellen aufgenommen. Wir verzichteten auf die Mitteilung von Versuchsgruppen, in welchen teils aus jahreszeitlichen Ursachen, teils wahrscheinlich wegen ungeeignetem Tiermaterial alle Einzelversuche negativ ausfielen.

Weiterhin sollte auch noch geprüft werden, ob die Thyroxinwirkung am Muskel davon abhängig ist, wie lange der Nerv mit der Thyroxinlösung in Berührung war, was für die Deutung der Versuchsergebnisse wichtig schien.

Wir berichten über diese Versuche tabellarisch, und zwar stellen wir in Tabelle 1 unsere mit der ursprünglichen Methode ausgeführten Versuche zusammen, in Tabelle 2 jene, in welchen die Muskel in situ belassen wurden, und in der Tabelle 3, in welchen der O_2-Verbrauch am unzerkleinerten Muskel in reinem O_2 bestimmt wurde.

Wir sehen, daß die gesteigerte Verbrennung ausnahmslos in jenem Muskel erfolgte, dessen Nerv mit Thyroxin in Berührung war und daß

Tabelle 1.

cmm Sauerstoffverbrauch von 1 g zerkleinertem Gastrocnemius bei 38° C je Stunde. Wanderungszeit 30—40 Stunden.

Versuch Nr.	Datum	Ischiadicus in Ringer	Ischiadicus in Thyroxinlösung	Zunahme %	Thyroxinkonzentration g je Liter
1	7. XII. 1934	100	124	24	10^{-12}
2	10. XII. 1934	100	132	32	
3	12. XII. 1934	102	134	31	
4	14. XII. 1934	146	176	20	
5	20. XII. 1934	74	92	24	
6	21. XII. 1934	122	154	26	
7	21. I. 1937	176	204	17	10^{-15}
8	29. I. 1937	225	267	19	
9	29. I. 1937	235	297	27	
10	5. II. 1937	195	234	26	
11	10. III. 1937	272	320	15	

[11] Mansfeld, G., u. I. Scheff-Pfeifer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 585 (1938).

Tabelle 2. Versuche am ganzen Frosch.

O_2-Verbrauch cmm von 1 g zerkleinertem Gastrocnemius bei 38° C je Stunde. Wanderungszeit 30—40 Stunden.

Versuch Nr.	Datum	Ischiadicus in Ringer	Ischiadicus in Thyroxinlösung 10^{-15}	Zunahme %
12	25. II. 1937	124	148	19
13	3. III. 1937	186	252	37
14	8. III. 1937	156	210	41
15	8. III. 1937	122	160	31

Tabelle 3.

cmm O_2-Verbrauch von 1 g unzerkleinertem Gastrocnemius bei 38° C je Stunde.

Versuch Nr.	Datum	Ischiadicus in Ringer	Ischiadicus in Thyroxinlösung 10^{-15}	Zunahme %	Wanderungszeit Std.
16	19. IV. 1937	153	218	42	28
17	7. V. 1937	166	192	15	40
18	7. V. 1937	234	254	8	40
19	9. V. 1937	123	186	51	40
20	13. V. 1937	183	187	0	40
21	13. V. 1937	189	227	20	40
22	14. V. 1937	198	230	16	40
23	10. VI. 1937	170	230	35	24
24	10. VI. 1937	255	338	32	24
25	14. VI. 1937	228	234	0	48
26	14. VI. 1937	292	332	14	48

in den wenigen Versuchen, in welchen das Thyroxin sich als unwirksam erwies, die Verbrennungen in beiden Muskeln innerhalb der Fehlergrenze die gleichen waren.

Die Thyroxinkonzentration war in unseren ersten Versuchen 10^{-12} (g je Liter) und wurde in den neuen Versuchen auf 10^{-15} vermindert. Die Versuchszeiten schwankten zwischen 24—48 Stunden. Die außerhalb der Fehlergrenze (10%) fallenden Steigerungen der Verbrennungen schwankten zwischen 14—51%.

In Tabelle 4 stellten wir jene Versuche zusammen, in welchen wir eine wesentlich kürzere Wanderungszeit, und zwar 12—15 Stunden wählten. Diese Versuche ergaben ausnahmslos ein negatives Ergebnis, was kaum eine andere Deutung zuläßt, als daß die Steigerung der Verbrennungen durch die Einwanderung des Thyroxins in den Muskel bedingt ist und nicht wie von Jancsó und Novák (l. c.) angenommen wurde, durch die nervenerregende Wirkung des Thyroxins, wofür die Zeit von 12—15 Stunden wohl ausgereicht hätte.

Sehr bezeichnend ist der letzte Versuch 30 der Tabelle 4, in welchem die Nerv-Muskelpräparate von zwei Fröschen unter völlig gleichen Bedingungen in der gleichen feuchten Kammer verschieden lange Zeit belassen wurden. Nach 13 Stunden war keine Steigerung der Verbrennungen eingetreten, nach 37 Stunden eine Beschleunigung um 26%.

Tabelle 4.

cmm O_2-Verbrauch von 1 g zerkleinertem Gastrocnemius bei 38° C. Wanderungszeit 12—15 Stunden.

Versuch Nr.	Datum	Ischiadicus in Ringer	Ischiadicus in Thyroxinlösung 10^{-15}	Zunahme %	Wanderungszeit Std.
27	4. II. 1937	159	158	0	12
28	12. II. 1937	145	144	0	15
29	13. II. 1937	118	112	0	15
30	10. II. 1937	183	178	0	13
		153	193	26	37

Die Versuche zeigen, daß Froschgastrocnemii, deren zentrales Nervenende für 24—48 Stunden mit sehr verdünnter (10^{-12}—10^{-15}) Thyroxinlösung in Berührung waren, um 14—51 % beschleunigten O_2-Verbrauch aufweisen, während bei einer Versuchszeit von 12—15 Stunden eine Oxydationsbeschleunigung vermißt wird. Wir glauben daraus schließen zu müssen, daß der Froschischiadicus fähig ist, Thyroxin aus einer sehr verdünnten Lösung aufzunehmen und in die Muskelzellen zu befördern.

3. Wanderung des Thyroxins durch den Warmblüternerven.

Unsere Feststellung, daß es am unversehrten Warmblütermuskel in reiner O_2-Atmosphäre gelingt, nach Warburg physiologische Werte des O_2-Verbrauchs zu erhalten[11], eröffnete den Weg, um die Wanderung des Thyroxins auch im Warmblüternerven zu prüfen. Zu diesem Zweck hatten wir die freipräparierten Ischiadici und Femoralnerven von Kaninchen an der einen Seite mit Ringerlösung, an der anderen mit Thyroxin-Ringer (10^{-12} 10^{-15}) infiltriert, ähnlich wie man eine perineurale bzw. endoneurale Novocainanästhesie ausführt. Das Ergebnis dieser Versuche war ein völlig negatives. In etwa 20 Versuchen hatten wir kein einzigesmal eine Steigerung der Verbrennungen im Gastrocnemius des thyroxinbehandelten Nerven nachweisen können. Dieses verschiedene Verhalten von Kalt- und Warmblütermuskel fand erst seine Erklärung, als es sich herausstellte, daß das Thyroxin, auch wenn es subcutan oder intravenös verabreicht wird, unfähig ist die Verbrennungen im Muskel zu steigern. In der vorstehenden Arbeit berichteten wir schon ausführlich über diese Verhältnisse, und hier wollen wir nur kurz wiederholen, daß, während das Thyroxin in allen untersuchten vegetativen Organen nach der bekannten Latenzzeit die Verbrennungen steigert, die Oxydationen im isolierten Muskel zunächst unverändert bleiben und die Thyroxinwirkung nur daran zu erkennen ist, daß Oxydationsreize, wie z. B. α-Dinitrophenol, Methylenblau (Nils Alwall und I. Scheff-Pfeifer[12]) oder am Froschmuskel die Erwärmung auf 38° C (wie in den eben mitgeteilten Froschversuchen),

[12] Alwall, Nils, u. Irene Scheff-Pfeifer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 296 (1937).

sich viel stärker auswirken, als ohne Thyroxin. Das Mißlingen unserer Versuche am Warmblüter fand also nicht in einem verschiedenen Verhalten der Nerven seine Ursache, sondern darin, daß die Versuchstemperaturen von 38° C wohl für den Froschmuskel, nicht aber für den Warmblütermuskel einen Oxydationsreiz darstellte, so daß, wenn auch am Kaninchen das Thyroxin durch den Nerven eingewandert ist, seine Wirkung auf den Muskel verborgen bleiben mußte.

Nach dieser Erkenntnis prüften wir, ob die Infiltration eines vegetativen Nerven mit Thyroxinlösungen im zugehörigen Organ zu einer Steigerung der Verbrennungen führt. Als Nerv wählten wir die Halsvagi, als vegetatives Organ die Leber, welche, wie wir in der vorstehenden Arbeit schon zeigten, 24 Stunden nach parenteraler Thyroxinzufuhr regelmäßig einen gesteigerten O_2-Verbrauch zeigt.

Um den Einwand auszuschließen, daß schon die Infiltration der Vagi an und für sich einen Nervenreiz darstellt und dieser eine Steigerung der Verbrennungen zur Folge haben könnte, sind wir so vorgegangen, daß wir zunächst die beiden Halsvagi mit der Thyroxinlösung (10^{-13}) infiltrierten, die Halswunde vernähten und dann erst, und zwar 20—30 Minuten später, die ersten Leberstückchen entnommen haben, in der Weise, wie wir es schon in der vorstehenden Arbeit beschrieben haben. 24 Stunden später wurden wieder Leberstückchen entnommen. Die Bestimmung des O_2-Verbrauchs geschah auch hier im Zweistundenversuch an den unzerkleinerten, in reinen Sauerstoff eingehängten Leberstückchen nach Warburg, und zwar stets an zwei Parallelproben. Sämtliche Eingriffe erfolgten unter aseptischen Bedingungen.

Unsere Hauptversuche, in denen wir die Halsvagi mit wirksamen Thyroxinkonzentrationen (10^{-13} g je Liter) infiltrierten und bis zur zweiten Leberentnahme mindestens 24 Stunden warteten, sind in Tabelle 6 zu-

Tabelle 5. O_2-Verbrauch der Leberzellen nach endovagaler Injektion unwirksamer Lösungen sowie ungenügend langer Zwischenzeit.

Versuch Nr.	Datum	cmm O_2-Verbrauch je g Leber und Stunde		Änderung	Halsvagi infiltriert mit	Zwischenzeit
		1. Leberprobe	2. Leberprobe	%		Std.
31	22. VI. 1938	594	554	− 7	Ringer	24
32	23. VI. 1938	613	651	+ 6	„	24
33	29. VI. 1938	694	687	− 1	„	24
34	18. VII. 1938	620	664	+ 7	Thyroxin 10^{-9}	24
35	20. VII. 1938	629	658	+ 4	„ 10^{-9}	24
36	21. VII. 1938	695	732	+ 5	„ 10^{-9}	24
37	12. X. 1938	767	729	− 5	„ 10^{-13}	5
38	12. X. 1938	689	669	− 3	„ 10^{-13}	5
39	4. VII. 1938	646	575	− 10	„ 10^{-13}	12
40	1. VII. 1938	516	618	+ 20	„ 10^{-13}	16
41	20. X. 1938	891	845	− 5	„ 10^{-13}	8
		891	1101	+ 23	„ 10^{-13}	24
42	21. X. 1938	828	801	− 3	„ 10^{-13}	8
		828	1022	+ 23	„ 10^{-13}	24

sammengestellt. Bevor wir diese Ergebnisse besprechen, wollen wir noch über Vorversuche berichten, die folgendem Zweck dienten:

Obschon unsere eben beschriebene Versuchsanordnung, bei welcher schon die erste Leberprobe nach der endoneuralen Injektion entnommen wird, eine eventuelle Wirkung der Infiltration selbst auf die Verbrennungen ausschloß, hatten wir doch in Vorversuchen die Wirkung von reiner Ringerlösung, sowie von erfahrungsgemäß für die Zelloxydationen unwirksamen Thyroxinkonzentrationen (10^{-9} g je Liter) auf die Verbrennungen in der Leber geprüft. Tabelle 5 zeigt einerseits die Unwirksamkeit dieser Lösungen, andererseits die entscheidend wichtige Tatsache, daß die Infiltration der Vagi auch mit wirksamen Thyroxinkonzentrationen (10^{-13}) nur dann die Verbrennungen steigert, wenn zwischen der endoneuralen Injektion und der zweiten Leberentnahme mindestens 16 Stunden verflossen sind. Sehr bezeichnend sind die zwei letzten Versuche 41 und 42 der Tabelle 5, in denen am selben Tier, 8 und 24 Stunden nach der Infiltration der Vagi Leberproben entnommen wurden und nach 8 Stunden gar keine, nach 24 Stunden aber eine bedeutende Zunahme der Verbrennungen stattfand.

In der folgenden Tabelle 6 stellen wir unsere Versuche zusammen, in welchen wir die Wirkung der endoneuralen Injektion wirksamer Thyroxinkonzentrationen (10^{-13}) in die Halsvagi auf die Verbrennungen in der Leberzelle nach einer Wartezeit von 24 Stunden untersuchten.

Tabelle 6. O_2-Verbrauch der Leberzellen nach endovagaler Injektion von wirksamen Thyroxinkonzentrationen (10^{-13} g je Liter) und 24 Stunden Zwischenzeit.

Versuch Nr.	Datum	cmm O_2-Verbrauch je g Leber und Stunde		Änderung
		1. Leberprobe	2. Leberprobe	%
43	30. VI. 1938	590	725	+ 22
44	4. VII. 1938	476	742	+ 56
45	6. VII. 1938	715	785	+ 10
46	11. VII. 1938	458	549	+ 20
47	20. VII. 1938	597	764	+ 28
48	21. VII. 1938	540	660	+ 22
49	22. VII. 1938	718	736	+ 2
50	23. VII. 1938	711	841	+ 18
51	25. VII. 1938	670	762	+ 14
52	26. VII. 1938	701	859	+ 22
53	30. IX. 1938	646	832	+ 28
54	30. IX. 1938	622	681	+ 10
55	3. X. 1938	681	806	+ 18
56	13. X. 1938	566	671	+ 19

Wir sehen, daß fast in allen Versuchen eine die Fehlergrenze überschreitende Steigerung der Verbrennungen stattgefunden hat, welche zwischen 14—56% lag.

Es sei noch darauf aufmerksam gemacht wie unendlich klein die Thyroxinmengen sind, welche hier zur Wirkung gelangen. Die gesamten in die beiden

Vagi injizierten Flüssigkeitsmengen waren 0,2—0,3 ccm, mit einem Gesamtthyroxingehalt von 2—3 zehnmillionstel γ, das sind 2—300 Millionen Moleküle. Die geringste Thyroxinmenge, welche bei parenteraler Zufuhr nach 24 Stunden eine Oxydationssteigerung in den Leberzellen herbeiführt, beträgt nach unserer Erfahrung 0,2 mg für Kaninchen von 2—2,5 kg Gewicht, also rund 1000 millionenmal so viel, als vom Nerven aus.

Es ergibt sich also aus diesen Versuchen einmal, daß die Infiltration der Vagi mit Flüssigkeit an und für sich die Verbrennungen in der Leberzelle unverändert läßt und weiterhin, daß für die Zelloxydationen wirksame Thyroxinlösungen nur dann sich als wirksam erwiesen, wenn zwischen der Nerveninfiltration und der Leberentnahme mindestens 16 Stunden verflossen sind.

4. Gelangt das Thyroxin auch unter physiologischen Bedingungen durch die Nerven in die Organzellen?

Nachdem die vorstehenden Untersuchungen zeigten, daß das Thyroxin fähig ist durch lebende Nerven in Organzellen einzuwandern, war die nächste Frage die wir zu prüfen hatten, ob es dies auch unter physiologischen Verhältnissen im Organismus tut?

Unsere [1] ersten Versuche, die für diese Möglichkeit sprachen, hatten wir an den Nieren ausgeführt und prüften, ob nach beiderseitiger Entnervung der Nieren noch eine Thyroxinsteigerung des O_2-Verbrauchs eintritt? Wir gingen so vor, daß wir nach Exstirpation der Niere Schnitte nach Warburg anfertigten, und diese entweder vor dem Warburg-Versuch 20—30 Minuten in Ringer suspendiert stehen ließen, oder den Versuch unter Zusatz von Äthylcarbylamin ausführten — wodurch, wie wir [1] zeigen konnten, günstige Bedingungen für die Thyroxinwirkung geschaffen werden. Dieses Verfahren hat den Nachteil, daß die Nierenzellen offenbar in ihrer Vitalität geschädigt, geringere Q_{O_2}-Werte liefern, als im frischen Zustand und so hatten wir in einer zweiten Versuchsreihe die Nierenschnitte ohne Vorbehandlung geprüft. Das Ergebnis beider Versuchsreihen bringen wir in Tabelle 7.

An den denervierten Nieren sahen wir nur einmal eine die Fehlergrenze überschreitende Steigerung des O_2-Verbrauchs und glauben trotz der gegenteiligen Ergebnisse von Oberdisse und Roda [13], daß die sorgfältige Entnervung der Nieren mit anschließender Phenolbehandlung von Gefäßen und Urether das Zustandekommen der Thyroxinwirkung hindert. Als Erklärung des Gegensatzes zwischen unseren und den Versuchen der genannten Autoren, kann vielleicht der nicht unwesentliche Unterschied der Methodik dienen, daß wir stets beide Nieren, Oberdisse und Roda aber immer nur die eine Niere entnervten, wodurch in ihren Versuchen die beiden Nieren nicht nur durch die Thyroxinzufuhr, sondern auch durch die ungleiche Nervenversorgung sich unterschieden. Daß dies für die

[13] Oberdisse u. Roda: Klin. Wschr. **1936**, S. 1094.

Tabelle 7. Q_{O_2}-Werte normaler und entnervter Kaninchennieren vor und nach Thyroxinbehandlung.

Versuch Nr.	Thyroxin-injektion mg	1. Niere	2. Niere	Differenz in %	Anmerkung
57	—	4,6	4,3	− 3	1. Versuchsreihe, Schnitte vorbehandelt (siehe Text)
58	—	4,3	4,5	+ 4	
59	1 × 1,0	3,0	4,1	+ 37	
60	4 × 0,5	3,9	4,6	+ 18	
61	4 × 0,5	5,6	6,7	+ 20	
62	3 × 0,5	8,31	12,49	+ 50	2. Versuchsreihe, Schnitte unvorbehandelt
63	3 × 0,5	9,26	9,25	± 0	
64	4 × 0,5	9,59	11,21	+ 17	
65	4 × 0,5	10,10	14,30	+ 42	
		Denerviert			
66	—	4,5	4,9	+ 9	1. Versuchsreihe, Schnitte vorbehandelt
67	—	3,5	3,8	+ 9	
68	—	5,4	5,6	+ 3	
69	4 × 0,5	5,8	5,7	− 2	
70	4 × 0,5	6,2	5,9	− 4	
71	4 × 0,5	5,9	6,1	+ 4	
72	3 × 0,5	8,36	8,62	+ 3	2. Versuchsreihe, Schnitte unvorbehandelt
73	4 × 0,5	10,20	12,11	+ 20	
74	4 × 0,5	10,18	11,34	+ 11	
75	3 × 0,5	10,61	10,54	± 0	

Ergebnisse nicht unwesentlich sein dürfte, und die von ihnen gefundene Oxydationssteigerung der entnervten Nieren erklären könnte, zeigte uns ein zufälliger Befund, nach welchem entnervte Nieren bis zu 38 % weniger Trockenrückstand ergaben, als nichtentnervte, was gerade bei der Berechnung der Q_{O_2}-Werte nach Warburg eine Erhöhung dieser Werte ergeben und dadurch eine Thyroxinwirkung vortäuschen könnte. In Ermangelung systematischer Untersuchungen an der entnervten und normalen Niere ein und desselben Tieres können wir nicht mit Sicherheit behaupten, daß in den Versuchen von Oberdisse und Roda der gesteigerte O_2-Verbrauch der entnervten Nieren durch einen höheren Wassergehalt vorgetäuscht war, wir möchten nur darauf hinweisen, daß sich diese mögliche Fehlerquelle durch die Entnervung beider Nieren ausschließen läßt.

Jedenfalls sprachen die unseren widersprechenden Ergebnisse von Oberdisse und Roda dafür, daß die Organentnervung keine unfehlbare Methode ist, um die Wanderung des Thyroxins durch den Nerven zu beweisen. Darin bestärkten uns die interessanten Befunde von Sunder-Plassmann[14] über die Existenz eines ganz besonders feinen nervösen Netzwerks, des „Terminal reticulum", von dem mit größter Wahrscheinlichkeit jede Zelle syncytial-kontinuierlich versorgt wird, so daß nach diesem Autor „es ganz außerordentlich schwer, wenn nicht gar unmöglich ist,

[14] Sunder-Plassmann, Paul: Dtsch. Z. Chir. **245**, 756 (1935).

ein Organ auf rein operativem Wege vollständig zu entnerven". Dies machte es notwendig, auch noch durch Versuche anderer Art die Frage zu prüfen, ob das Thyroxin in der Tat nicht vom Blut aus, sondern auf dem Wege der Nerven in die Organzellen gelangt.

5. Der zeitliche Verlauf der Thyroxinwirkung in den verschiedenen Organen.

Die Methode der Vagusinfiltration führte wie wir sahen zu dem Ergebnis, daß das Thyroxin eine ziemlich lange Wanderungszeit besitzt, und daß eine am Halse ausgeführte Thyroxininfiltration frühestens nach 16 Stunden zu einer Steigerung der Verbrennungen in der Leber führt. Wenn unsere Annahme richtig wäre und das Thyroxin vom Zentralnervensystem aufgenommen würde und von dort aus auf dem Nervenweg in die Organzellen einwanderte, so müßte nach intravenöser Thyroxinzufuhr an Organen, welche dem Zentralnervensystem nahe liegen die Thyroxinwirkung viel früher einsetzen, als an fernen Organen. Dies zu prüfen war Zweck der folgenden Untersuchungen.

Als Organe wählten wir zunächst Ohrspeicheldrüsen und Hoden und gingen so vor, daß wir normalen Kaninchen die eine Parotis sowie den einen Hoden für den Warburg-Versuch entnommen haben, dann 1 mg Thyroxin intravenös spritzten und 16—46 Stunden später die symmetrischen Organe entnahmen, um zu sehen, ob die Steigerung der Verbrennungen in den zwei Organen zur gleichen Zeit eintritt, oder ob eine der Länge der Nervenstrecke entsprechende Verzögerung der Wirkung zu verzeichnen ist.

Das Ergebnis dieser Versuche zeigt Tabelle 8.

Tabelle 8. O_2-Verbrauch von Parotis und Hoden vor und nach intravenöser Injektion von 1 mg Thyroxin bei einer Zwischenzeit von 16 bis 46 Stunden.

Versuch Nr.	Datum	Parotis				Hoden			
		O_2-Verbrauch je g und Stunde		Zwischenzeit	Differenz	O_2-Verbrauch je g und Stunde		Zwischenzeit	Differenz
		vor Thyroxin	nach Thyroxin	Std.	%	vor Thyroxin	nach Thyroxin	Std.	%
76	17. I. 1939	195	315	24	+ 61	234	240	24	+ 2
77	20. I. 1939	239	316	24	+ 34	348	321	24	— 7
78	20. I. 1939	220	256	24	+ 16	204	211	24	+ 3
79	14. II. 1939	321	385	24	+ 20	345	341	24	— 1
80	14. II. 1939	305	414	24	+ 36	276	304	24	+ 10
81	27. I. 1939	232	314	36	+ 35	268	310	36	+ 15
82	27. I. 1939	266	250	36	— 5	190	204	36	+ 7
83	30. I. 1939	187	240	16	+ 28	271	263	46	— 3
84	30. I. 1939	199	255	16	+ 28	200	275	46	+ 37
85	7. II. 1939	264	305	16	+ 15	252	393	46	+ 56
86	7. II. 1939	205	248	16	+ 21	195	309	46	+ 58

Wir sehen, daß die Thyroxinwirkung an der Ohrspeicheldrüse schon nach 16 Stunden sehr deutlich ist und ihren Höhepunkt

nach 24 Stunden erreicht, während am Hoden zu diesem Zeitpunkt kein einzigesmal, nach 36 Stunden einmal eine schwache Thyroxinwirkung zu beobachten war und die voll entwickelte Thyroxinsteigerung der Verbrennungen erst 46 Stunden nach der Thyroxininjektion eintritt, also etwa 30 Stunden später, als an der Ohrspeicheldrüse.

In einer zweiten Versuchsreihe hatten wir den Zeitpunkt der gesteigerten Oxydation in Leber und Hoden festgestellt, um zu sehen, ob auch zwischen diesen zwei Organen ein, ihrer Entfernung vom Zentralnervensystem entsprechender Unterschied in der Wirkungszeit besteht. Das Ergebnis ist in Tabelle 9 zusammengestellt.

Tabelle 9. O_2-Verbrauch von Leber und Hoden vor und nach intravenöser Injektion von 1 mg Thyroxin bei einer Zwischenzeit von 16—48 Stunden.

Versuch Nr.	Datum	Leber				Hoden			
		O_2-Verbrauch je g und Stunde		Zwischenzeit Std.	Differenz %	O_2-Verbrauch je g und Stunde		Zwischenzeit Std.	Differenz %
		vor Thyroxin	nach Thyroxin			vor Thyroxin	nach Thyroxin		
87	14. VI. 1939	669	743	16	+ 10	284	288	24	± 0
88	14. VI. 1939	688	728	16	+ 5	325	300	24	− 7
89	16. VI. 1939	508	660	24	+ 30	330	415	48	+ 26
90	16. VI. 1939	503	690	24	+ 37	310	381	48	+ 23

Wie wir sehen ist in der Leber nach 16 Stunden noch keine Wirkung des Thyroxins zu beobachten. Sie setzt erst nach 24 Stunden ein, während im Hoden nach dieser Zeit noch keine, nach 48 Stunden aber eine deutliche Wirkung zu verzeichnen ist. Die Latenzzeit der Thyroxinwirkung für die Leber ist also etwa 8 Stunden länger als für die Parotis und 24 Stunden kürzer als für den Hoden.

Wir glauben, daß eine andere Deutung dieser Versuchsergebnisse kaum möglich ist, als daß das in die Blutbahn injizierte Thyroxin nicht unmittelbar von den vegetativen Organen, sondern vom Zentralnervensystem aufgenommen wird und auf dem Nervenweg in die Organzellen eindringt und dort die Verbrennungen steigert.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Die Fähigkeit des lebenden Nerven, chemische Stoffe zu befördern, zeigten zuerst für Tetanus- und Diphterietoxin die grundlegenden Untersuchungen von Meyer und Ransom[15], später jene von E. W. Goodpasture[16] für das Herpes- und Hundswutvirus, von R. W. Fairbrother und E. W. Hurst[17] für das Virus der Kinderlähmung.

[15] Meyer u. Ransom: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **49**, 369 (1903). — [16] Goodpasture, E. W.: Amer. J. Path. **1**, 11 u. 547 (1925). — [17] Fairbrother, R. W., u. E. W. Hurst: J. Path. a. Bacter. **33**, 17 (1930).

Lichtwitz[18] hatte die Beobachtung gemacht, daß Adrenalin die Fähigkeit besitzt durch die Nervensubstanz zu wandern, doch wurden seine Versuchsergebnisse von S. Meltzer[19] widerlegt. Die hier mitgeteilten Versuche zeigen erstmalig, daß ein körpereigener physiologisch wirksamer Stoff, das Thyroxin, nicht nur fähig ist durch lebende Nerven zu wandern, sondern daß diese Fähigkeit für seine Wirkungsart und Verteilung im Organismus bestimmend ist. Die Tatsache, daß das Thyroxin nicht vom Blut aus unmittelbar in die Organe gelangt, sondern über das Zentralnervensystem auf dem Nervenwege in die Organzellen eindringt, erklärt die ungewöhnlich lange Latenz seiner Wirkung. Die Wanderungszeit des Thyroxins im Kaninchennerven beträgt nach unseren Versuchen etwa 30 Stunden für eine Strecke von etwa 50 cm — das ist die Entfernung zwischen Ohrspeicheldrüse und Hoden — was gut damit übereinstimmt, daß das Thyroxin die Entfernung von etwa 25 cm vom Hals bis zur Leber im Vagus in etwa 16 Stunden zurücklegte. Die Tatsache, daß die Latenzzeit der Thyroxinwirkung bei Tierarten ungleicher Größe (Meerschweinchen, Ratte, Kaninchen) keine wesentlichen Unterschiede zeigt, läßt darauf schließen, daß vielleicht die Wanderungsgeschwindigkeit mit der Zahl der Nervenfasern proportional ist. Jedenfalls steht die am Kaninchen experimentell festgestellte Wanderungszeit im Einklang mit der Tatsache, daß nach intravenöser Injektion von Thyroxin die erste meßbare Steigerung des Ruheumsatzes nach 18—20 Stunden zu beobachten ist und nach 36—40 Stunden ihren Höhepunkt erreicht. Durch den Nachweis, daß das Thyroxin durch die Nerven an die Peripherie gelangt, wird noch eine weitere bisher unverständliche Erscheinung klar und zwar der nicht ganz selten beobachtete halbseitige Exophthalmus bei Basedow.

Daß das Thyroxin übrigens nicht das einzige Hormon ist, welches durch den Nerven die Stätten seiner Wirkung erreicht, dafür spricht die interessante, den Jägern wohlbekannte Tatsache, daß beim Hirsch nach Verletzung oder Verlust eines Hodens das Geweih einseitig und zwar immer kontralateral verkümmert, was unzweifelhaft für die Wanderung des Hodenwirkstoffes durch jene Rückenmarksbahnen spricht, die eine Kreuzung erleiden*.

---

[18] Lichtwitz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **58**, 221 (1908); **65**, 14 (1911). — [19] Meltzer, S.: Ebenda **59**, 458 (1908).

* Im ungarischen Wegweiser für Jäger von László Nagy für das Jahr 1932/33 steht wörtlich: „Die Entwicklung des Geweihes steht im Zusammenhang mit den Geschlechtsorganen. Wenn der Hirschbock halbseitig kastriert wird oder wenn ein Hoden verletzt wird (z. B. durch einen Schuß), so legt er an der entgegengesetzten Seite nicht auf." — Adolf Balkay schreibt in seinem Werk: „Der Hirsch und seine Jagd" (ungarisch) 1903, S. 31: „Wenn von den Hoden nur der eine zugrunde geht, so verkümmert nur der eine Geweihast, und zwar jener der Gegenseite; wenn also der rechte Hoden entfernt wird, so verkümmert das linke Geweih und umgekehrt." Im Werk von Dombrowsky: „Die Geweihbildung" heißt es: „Die Verkümmerung und Mißbildung des Geweihes als Folge von Hodenverletzungen treten niemals an der Seite der Verletzung auf, sondern gekreuzt auf der anderen Seite."

Das Geschlechtshormon scheint also beim Hirschbock vom Hoden aus unmittelbar in die Nerven einzudringen und mit Umgehung des Blutweges in die Bahnen des Rückenmarks, um durch diese zu den Zentren der Geweihbildung oder gar unmittelbar an die Peripherie zu gelangen. Ob auch das Schilddrüsenhormon unter physiologischen Umständen in der Drüse schon von Nerven aufgenommen wird oder erst in die Blutbahn und von dort in die Nervensubstanz gelangt, wissen wir noch nicht. Sicher scheint nur, daß das in die Blutbahn injizierte Thyroxin von dort aus den Weg über das Nervensystem zu den Organen findet.

Schließlich sei noch kurz über die wahrscheinliche Bedeutung dieser Verteilungsart des Thyroxins gesprochen:

Es scheint uns sehr wahrscheinlich, daß das Thyroxin auf zwei verschiedene Arten die Verbrennungen in der Zelle steigern kann. Die eine Wirkungsart bedarf eine Schädigung der Zelle und die dadurch bedingte Lähmung der Pasteurschen Reaktion. Ist dies der Fall, so wirkt Thyroxin unmittelbar vom Blute aus ohne Latenz. Dies ist der Fall, wie wir zeigen konnten[20], wenn unter schlechter O_2-Versorgung isolierten Organen oder Organzellen Thyroxin verabreicht wird. Am isolierten Hundebein läßt sich auf diese Weise wie zuerst U. S. v. Euler[21] zeigen konnte, eine beträchtliche Steigerung der Verbrennungen in wenigen Minuten erzielen. Außer dem Mangel der Latenzzeit ist für diese Art der Thyroxinwirkung bezeichnend, daß sie die Dinitrophenolwirkung nicht potenziert im Gegensatz zu der im Organismus unter physiologischen Bedingungen einsetzenden Thyroxinwirkung[22]. Ob diese Art der Thyroxinwirkung auch im ganzen Organismus vorkommt, wissen wir nicht, vermuten aber, daß bei schwerer Schädigung des Kreislaufs die bekannte hochgradige Steigerung des Ruheumsatzes wenigstens zum Teil durch ein Wirksamwerden des in der Blutbahn kreisenden Thyroxins bedingt sein könnte.

Die zweite — wir dürfen wohl sagen physiologische Art der Thyroxinwirkung wird nicht von dem im Blut kreisenden Thyroxin herbeigeführt. Wie wir in früheren Arbeiten zeigen konnten ist das Thyroxin nicht fähig die Verbrennungen unmittelbar zu steigern, sondern die Spaltungsprozesse und die entstandenen Spaltprodukte führen dann zur Steigerung der Verbrennungen. Vom Blute aus kann das Thyroxin aber nur an die Zelloberfläche, wo unter normalen Verhältnissen — wie es schon Miescher vermutete[23] und später Warburg[24] zeigte — die Oxydationen sich abspielen, welche bekanntlich zufolge der Pasteurschen Reaktion die Gärungsprozesse hemmen. Um von hier aus zu wirken bedarf das Thyroxin eine wenn auch noch so geringe Schädigung der Zelle* durch welche eine

[20] Mansfed, G.: Klin. Wschr. **1935**, S. 884; sowie Alwall, Nils, u. I. Scheff-Pfeifer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 296 (1937). — [21] Euler, U. S. v.: Arch. Internat. Pharm. Ther. **52**, 178 (1932). — [22] Alwall, Nils, u. I. Scheff-Pfeifer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 296 (1937). — [23] Miescher, F.: Die histochem. u. physiolog. Arbeiten, Bd. I, S. 95. Leipzig, F. C. W. Vogel, 1897. — [24] Warburg, O.: Biochem. Z. **119**, 134 (1921).

* Es genügt dazu, daß der O_2-Verbrauch von Warmblüterorganen wie in den Versuchen von Haarmann[6] statt bei 38° C bei 28° C gemessen wird.

Lähmung der Pasteurschen Reaktion eintritt, wodurch Oxydations- und Gärungsprozesse nebeneinander laufen. Um aber an der intakten Zelle eine Thyroxinsteigerung der Verbrennungen zu erzielen, muß das Thyroxin dem ganzen Organismus einverleibt werden. Diese Wirkung setzt nach einer Latenz von etwa 24 Stunden ein, zeigt mit α-Dinitrophenol und Methylenblau Synergismus[22] und dürfte, wie unsere Versuche zeigen, dadurch bedingt sein, daß das Thyroxin durch die Nerven in die Zellen wandert, und zwar wie wir glauben mit Umgehung der Zelloberfläche in das Zellinnere, wo - nachdem an der Zelloberfläche der O_2 abgefangen wird — unter O_2-Armut die Gärungsprozesse sich abspielen, deren Intensität die Geschwindigkeit der Verbrennungsprozesse bestimmt. Darin liegt unseres Erachtens der Sinn dieser Nervenwanderung des Thyroxins und ihre Bedeutung für die Katalyse der Zellatmung.

Zusammenfassung.

1. Es wird in Bestätigung früherer Ergebnisse mit verbesserten Methoden gezeigt, daß der Froschischiadicus fähig ist, Thyroxin aus einer sehr verdünnten Lösung aufzunehmen und in die Muskelzellen gelangen zu lassen.

2. Die gleiche Tatsache ließ sich auch am Warmblüter nachweisen: Werden am Kaninchen die Halsvagi mit stoffwechselwirksamen Thyroxinlösungen (10^{-13} g pro Liter) infiltriert, so erfolgt in den isolierten Leberzellen — und zwar frühestens nach 16 Stunden — eine Steigerung der Verbrennungen um 14—56%, während Infiltration mit Ringerlösung, sowie mit stoffwechselunwirksamen Thyroxinkonzentrationen (10^{-9}) die Verbrennungen in der Leberzelle unverändert läßt.

3. Es konnte an doppelseitig entnervten Nieren gezeigt werden, daß für das Zustandekommen der peripheren — auch nach Isolierung des Organs fortbestehenden — Thyroxinwirkung die Nervenversorgung Vorbedingung ist.

4. Intravenöse Injektion von Thyroxin führt an der Ohrspeicheldrüse schon nach 16 Stunden, in der Leber nach 24 Stunden, am Hoden aber erst nach 46 Stunden zu einer Steigerung des O_2-Verbrauchs, woraus gefolgert wird, daß das Thyroxin, aus dem Blut vom Zentralnervensystem aufgenommen, den Nerven entlang in die Organzellen einwandert. Es wird auf die Bedeutung dieser Nervenwanderung für die Katalyse der Zellatmung hingewiesen.

Ergänzende Bemerkungen zu meiner Arbeit

„Untersuchungen über die spasmolytische Wirkung von Restalkaloiden aus der Lobelia inflata usw."

in Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 280 (1938).

Von

R. Richter.

Herr Dr. Thomä im wissenschaftlichen Laboratorium der Chemischen Fabrik C. H. Boehringer, Nieder-Ingelheim, legt Wert auf die Feststellung, daß die in meiner Arbeit verwendeten Alkaloidstoffe von ihm dargestellt worden sind und nicht von Herrn Dr. Kalthoff, dessen Bericht über einen Vortrag auf der Dresdener Tagung der Naturforscher und Ärzte 1936 ich als neueste Literaturstelle betreffend Bearbeitung der Lobelia-Nebenalkaloide zitiert hatte.

Nachtrag zur Arbeit:

„Über eine diuretische und Kochsalz ausschwemmende Substanz in Hypophysenhinterlappen-Präparaten."

[Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 686 (1939)].

Von

G. Kuschinsky und **H. E. Bundschuh.**

Durch ein Versehen sind die Legenden der Abb. 1a und 1b unberücksichtigt geblieben. Sie lauten folgendermaßen:

Abb. 1a. Harnausscheidung je einer Gruppe von 4 Ratten nach 3 ccm per os (Leerversuch) und nach subcutanen Einspritzungen von HHL-Präparaten. Die Kurven stellen Durchschnittswerte aus je 6 Gruppen (24 Tieren) dar, beim Leerversuch wurden nur 4 Gruppen (16 Tiere) verwendet. Alle Dosen pro 100 g Ratte. a = 50 Milli-E. Orasthin, b = je 45 Milli-E. Orasthin + Tonephin, c = 50 Milli-E. Hypophysin, d = 0,5 ccm physiol. NaCl-Lösung (Leerversuch), e = 50 Milli-E. Tonephin.

Abb. 1b. Doppelte Dosen wie Abb. 1a. Schlechtere Wasserausscheidung im Leerversuch, daher wohl allgemein schlechtere Reaktion dieser Versuchstiere gegenüber Abb. 1a.

Aus der Röntgen-Radium-Abteilung (Leiter: Doz. Dr. med. habil. H. v. Braunbehrens) der Medizinischen Universitäts-Klinik (Direktor: Prof. Dr. Bohnenkamp) Freiburg i. Br.

Über Veritolwirkung bei Gesunden nach körperlicher Belastung.

Von

Eberhard Schoppe.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 18. Juni 1939.)

Nach starken körperlichen Leistungen werden oft Erschöpfungszustände beobachtet, bei denen von vornherein nicht ohne weiteres entschieden werden kann, wodurch dieses Versagen des Kreislaufs bedingt ist. Schellong (8) hat in letzter Zeit mehrfach darauf hingewiesen, daß es sich hier im wesentlichen um sogenannte hypotone Regulationsstörungen des Kreislaufs handelt. Es sind nach seiner Auffassung Störungen im peripheren Kreislauf, die zu einem Versacken des Blutes in die Peripherie führen, was einen mangelhaften Rückfluß des Blutes in den arteriellen Kreislauf und damit zum Herzen zur Folge hat.

Ähnliche Beobachtungen machte Reindell (5), der nach stärkeren Beschwerden (leichter Ohnmacht und Schwindelgefühl) nach sportlichen Leistungen ein Absinken des systolischen Drucks unter den Ausgangswert 5—10 Minuten nach Belastung fand. Er führte Untersuchungen nach starken körperlichen Leistungen (1000—3000 m-Lauf) an Trainierten und Untrainierten durch, die zeigten, daß der systolische Blutdruck beim Trainierten nach körperlicher Leistung nicht so rasch absank, wie beim Untrainierten oder dem leistungsschwachen Astheniker. Die gleichzeitig vorgenommenen elektrokardiographischen Untersuchungen ergaben in besonders ausgeprägten Fällen bei Untrainierten zugleich mit den Blutdrucksenkungen 5—10 Minuten nach Leistung starke Abflachungen, Negativwerden der Endschwankungen oder Senkung des Zwischenstückes in mindestens zwei Ableitungen.

Das Verhalten des EKG und des Blutdrucks berechtigen zu der Annahme, daß diese hypotonen Regulationsstörungen auch zu Durchblutungsstörungen des Herzens führen. Im Hinblick auf die Untersuchungen Büchners (2) muß an die Möglichkeit des Auftretens von lokalisierten Nekroseherden gedacht werden, wenn dem Herzen immer wieder diese mehr oder weniger starken Durchblutungsstörungen zugemutet werden. Um die genannten Kollapszustände therapeutisch zu beeinflussen, wurden

von Reindell, Baurhenn und v. Braunbehrens (6) Versuche mit Veritol-Cardiazol-Traubenzucker Tabletten durchgeführt. Hierbei ergab es sich, daß Veritol-Cardiazol-Traubenzucker in Tablettenform einen wesentlichen Einfluß auf den Blutdruck nach körperlicher Leistung ausübt. In der ganzen Zeit der Erholungsphase (bis nach 20 Minuten) sinkt der systolische Blutdruck nur langsam ab, wodurch die Blutdruckamplitude größer bleibt. Ein wesentlicher Einfluß auf den diastolischen Druck ist hierbei nicht zu beobachten, sofern man sich innerhalb der angegebenen Dosierung hält. Dieses Verhalten des Blutdrucks, das auf eine bessere Füllung des arteriellen Gefäßsystems schließen läßt, wirkt sich auch auf eine bessere Durchblutung des Herzens aus. Die gleichzeitig vorgenommenen elektrokardiographischen Untersuchungen lassen diese Schlußfolgerung zu.

Nach den ersten günstigen Urteilen über die Wirkung des Veritols auf den Kreislauf, im Tierexperiment [Rein (7), Mügge (4), Zipf (9)] und am Krankenbett, wurde man in der Beurteilung des Mittels bald vorsichtiger. Einige Verfasser berichteten von einer toxischen Wirkung auf den Herzmuskel [Aschenbrenner und Codas Thompson (1)], die sie aus Veränderungen des EKG nach Veritolgaben annahmen. Veröffentlichungen der letzten Zeit haben jedoch gezeigt, daß eine direkte toxische Wirkung des Veritols auf den Herzmuskel nicht anzunehmen ist.

Da über die Wirkung des Veritols nach Belastung noch keine Untersuchungsergebnisse vorlagen, begannen wir systematisch zunächst das Verhalten des Kreislaufs nach Veritolgaben in Ruhe eingehend zu studieren, um in späteren Versuchen über eine Belastung von 50 Kniebeugen zu erschöpfender Leistung in Form eines 2500-m-Laufes überzugehen. Besondere Berücksichtigung fand dabei das Verhalten des Blutzuckers.

I.

Zunächst wurden zehn herzgesunde Studenten im Alter von 18—25 Jahren in Ruhe untersucht.

Versuchsanordnung: Nach $^1/_4$stündiger Ruhelage wurden Blutdruck und Pulsfrequenz gemessen und der Nüchtern-Blutzucker bestimmt. Die einzelnen Versuchspersonen waren seit mindestens 5 Stunden nüchtern. Ruhe-Blutdruck und Ruhe-Pulsfrequenz wurden vor der Blutentnahme bestimmt. Es wurden darauf 0,06 g Veritol liquidum per os gegeben und über 80 Minuten hin wiederholt Blutdruck, Pulsfrequenz und Blutzucker nachuntersucht. Die Zuckerbestimmung wurde ausgeführt nach Hagedorn-Jensen unter steter Verwendung der gleichen Lichtquelle (Tageslichtlampe).

Die gemittelten Durchschnittswerte der Ergebnisse sind in Tabelle 1 und 2 dargestellt.

Tabelle 1. Blutdruck und Pulsfrequenz in Ruhe und nach 0,06 g Veritol liqu. Durchschnittswerte von zehn herzgesunden jungen Männern.

	Veritol ↓ Ruhe	Zeit in Min. 10–11	22–23	31–32	43–45	53–54	73–75	80–82
Blutdruck	123/75	121/76	128/75	151/88	151/84	156/93	138/83	127/73
Amplitude	48	45	53	63	67	63	55	54
Frequenz	68	65	60	55		51	61	65

Tabelle 2. Blutzucker in Ruhe und nach 0,06 g Veritol liqu.

	Zeit in Min. Ruhe	↑ Veritol 24–25	32–33	45–46	67–68	83–84
mg%	87	91	87	89	86	86

Der systolische Blutdruck steigt von 123 mm Hg allmählich an und erreicht 53—54 Minuten nach Veritolgabe mit 156 mm Hg seinen höchsten Wert.

Der diastolische Blutdruck von Anfangs 75 mm Hg nimmt ebenfalls zu, wenn auch nicht im gleichen Maße und erreicht 53—54 Minuten nach Veritolgabe mit 93 mm Hg seinen höchsten Wert. Die Blutdruckamplitude wird größer.

Die Frequenz sinkt im Mittel um 17 Schläge pro Minute ab, d. h. von 68 auf 51. N. N., der seine Blutdruckwerte von 123/68 auf 170/90 steigerte, zeigte die größte Pulsverlangsamung von 88 auf 67 Schläge in der Minute.

Die Blutzuckerwerte zeigen keine Beeinflussung nach Veritol. Die geringen Schwankungen liegen noch innerhalb der Fehlergrenze des Prüfverfahrens.

Die Gabe von 0,06 g Veritol liquidum per os beginnt nach etwa 15—20 Minuten wirksam zu werden, erreicht mit 50 Minuten ihre Spitze und ist in 81 Minuten noch nicht völlig abgeklungen.

Die Blutdruck Steigerungen durch Veritol sind nicht einheitlich. Wie schon von anderer Seite wiederholt berichtet wurde, beobachteten auch wir eine wechselnde Empfindlichkeit. Wirksam war Veritol liquidum 0,06 g per os in jedem Falle. Der höchste beobachtete Blutdruckwert betrug 175/95 bei einem Ausgangswert von 120/78 mm Hg. Besonders zu vermerken ist, daß in keinem Falle auch bei der hohen Dosierung über irgendwelche Sensationen geklagt wurde.

II. Belastung mit 50 Kniebeugen ohne und mit 0,04 g Veritol liquidum.

Untersucht wurden fünf herzgesunde Studenten im Alter von 18—25 Jahren.

Versuchsanordnung: Die Versuchspersonen waren seit 5 Stunden nüchtern. Nach $^1/_4$stündigem Liegen wurden Blutdruck und Pulsfrequenz gemessen, sowie der Ruheblutzucker bestimmt.

Ohne vorherige Veritolgabe wurden 50 Kniebeugen durchgeführt und sofort nach Belastung, sowie nach 1, 2—3, 4—5 und 10—11 Minuten Blutdruck und Frequenz gemessen. Der Blutzucker wurde bei 2—$2^1/_2$, 12 und 15 Minuten bestimmt. Am nächsten Versuchstage wurden die gleichen Belastungen und Untersuchungen durchgeführt, nur erhielt jede Versuchsperson 20 Minuten vor Belastung 0,04 g Veritol liquidum per os. Tabellen 3 und 4 stellen das Mittel der gefundenen Werte vergleichsweise gegenüber.

Tabelle 3.

Blutdruck und Pulsfrequenz nach Belastung mit 50 Kniebeugen ohne und nach 0,04 g Veritol.
Mittelwerte aus fünf herzgesunden Männern.

	Zeit in Min.					
	Ruhe	$^3/_4$—1	$2^1/_2$—3	4—$4^1/_2$	6	10—11
Ohne Veritol	115/67	166/60	140/72	133/73	127/73	116/64
Amplitude	48	106	68	60	54	52
Mit 0,04 g Veritol liqu.	116/71	172/56	157/62	145/70	137/73	125/69
Amplitude	45	116	95	75	64	56
Frequenz ohne Veritol	58	77	78	76		69
Frequenz mit 0,04 g Veritol liqu.	60	77	77	70		68

Tabelle 4. Blutzucker nach Belastung ohne und nach 0,04 g Veritol.

	Zeit in Min.			
	Ruhe	2—$2^1/_2$	12	15
Ohne Veritol	89	92	87	88
Mit 0,04 g Veritol liqu.	95	100	96	98

Das Verhalten des Blutdrucks zeigt mit 0,04 g Veritol liquidum sofort nach Belastung ein stärkeres Ansteigen des systolischen Blutdrucks als ohne Veritol. In der Erholungsphase beträgt der systolische Blutdruck 10—11 Minuten nach Belastung noch 125 mm Hg, während er ohne vorherige Veritolgabe zu diesem Zeitpunkt schon den Ruhewert von 116 mm Hg wieder erreicht hat. Der diastolische Blutdruck hingegen sinkt nach vorheriger Veritolgabe bei $^3/_4$—1 Minute nach Belastung von 69 auf 56 mm Hg ab, um über 62 (72 mm Hg ohne Veritol) bei $2^1/_2$—3 Minuten und 70 mm Hg (73 ohne) bei 4—$4^1/_2$ Minuten sich 6 Minuten nach Belastung mit 73 mm Hg auf gleicher Höhe wie ohne Veritol zu befinden und nach 10—11 Minuten den Ausgangswert zu erreichen.

Somit sinkt der diastolische Blutdruck nach Belastung und vorheriger Gabe von 0,04 g Veritol liquidum im Mittel etwas ab. Eine Steigerung über den Ruhewert, über das auch ohne Veritol beobachtete Maß hinaus, wurde in keinem Falle beobachtet.

Die Blutdruckamplitude ist somit sofort nach Belastung als auch in der weiteren Erholungsphase nach vorheriger Veritolgabe größer als ohne Veritol.

Die Frequenz weist bei gleichen Ruhewerten sofort nach Belastung und in der Erholungsphase keine wesentlichen Unterschiede auf. Lediglich 4 Minuten nach Belastung ist mit Veritol ein langsameres Schlagen des Herzens zu beobachten.

Die Blutzuckerwerte mit und ohne Veritol zeigen in Ruhe und nach Belastung keine wesentlichen Verschiedenheiten.

Bemerkenswert ist das subjektive Empfinden der Versuchspersonen. Einstimmig wurde versichert, daß die Erholung eine raschere sei. Sch. klagte sofort nach Belastung über ein Druckgefühl im Kopf, das aber in der Erholungsphase bald nachließ.

III. Belastung durch 2500-m-Lauf.

Untersucht wurden fünf herzgesunde untrainierte Studenten und fünf trainierte Mittelstreckenläufer, im Alter von 18—26 Jahren, ohne und nach Gabe von 0,04 g Veritol liquidum. Jeder Lauf bedeutete Einsatz zur Höchstleistung.

Versuchsanordnung: Die Versuchspersonen ruhten vor jedem Lauf auf einem Liegesofa 20 Minuten aus. Nach dieser Zeit wurde die elektrische Stromkurve in allen drei Ableitungen geschrieben, die Blutdruckwerte und der Ruheblutzucker bestimmt; anschließend wurde der Lauf durchgeführt. Bei Gabe von Veritol wurde noch eine Einwirkungszeit von 20 Minuten eingeschoben. Die Zeit, für die einzelnen Runden (12 Runden auf einem etwa 208 m langen Kiesweg), wurde mit der Stoppuhr genau festgelegt, um im Vergleichslauf mit Veritol die gleichen Versuchsbedingungen zu schaffen. Sofort nach dem Lauf wurde das EKG in allen drei Ableitungen geschrieben, der Blutdruck gemessen und nach etwa $1^1/_2$—2 Minuten der Blutzucker abgenommen. In der folgenden Erholungsphase wurde bei 1, 3, 5, 10, 20 und 30 Minuten das EKG wiederum in allen drei Ableitungen geschrieben, jeweils unmittelbar darauf der Blutdruck ermittelt und bei 13 und 33 Minuten der Blutzucker bestimmt. In den folgenden Tabellen sind die Mittelwerte von Trainierten und Untrainierten gegenübergestellt.

Die Ausgangswerte des Blutdrucks sind bei Untrainierten und Trainierten im Mittel gerechnet mit 134/85 gegenüber 132/84 praktisch gleich. 40—50 Sekunden nach dem Lauf sehen wir in beiden Gruppen ein annähernd gleiches Ansteigen des systolischen Blutdrucks auf 197 bzw. 200 mm Hg. Der diastolische Blutdruck zeigt bei Untrainierten ein Absinken um nur 10 mm Hg, während die Sportler diesen um 29 mm Hg senken. Daraus ergibt sich eine Blutdruckamplitude von 122 gegenüber 145 mm Hg beim Sportler. Im weiteren Verlauf der Erholungsphase geht das Absinken des systolischen Blutdrucks bei den Trainierten gleich-

Tabelle 5. Blutdruck nach Belastung mit 2500-m-Lauf ohne und mit Veritol liqu. 0,04 g. Mittelwerte von fünf untrainierten und fünf trainierten Läufern.

	Zeit in Min. und Sek.							
	Ruhe	0'40'' —0'50''	2'—2'30''	3'55'' —4'25''	5'45'' —6'20''	11—12'	20'30'' —21'15''	31—32'
Untrainierte ohne Veritol	134/85	197/75	166/78	144/81	132/79	130/83	128/89	128/89
Amplitude	49	122	88	63	53	47	39	39
Untrainierte mit Veritol	134/85	199/79	176/80	160/83	151/85	145/89	134/91	129/91
Amplitude	49	120	96	77	66	56	43	38
Trainierte ohne Veritol	132/84	200/55	172/67	155/71	141/77	134/85	131/83	127/83
Amplitude	48	145	105	84	64	49	48	44
Trainierte mit Veritol	132/84	206/54	182/62	162/71	152/75	141/85	134/84	131/83
Amplitude	48	152	120	91	77	56	50	48

mäßiger und langsamer vor sich. Er ist 5 Min. 45 Sek. bis 6 Min. 20 Sek. nach Belastung noch um 9 mm Hg höher, um bei 20 Min. 30 Sek. bis 21 Min. 15 Sek. den Ausgangswert annähernd zu erreichen. Die Untrainierten zeigen schon nach 5 Min. 45 Sek. bis 6 Min. 20 Sek. eine Rückkehr des systolischen Blutdrucks zum Ruhewert. Der diastolische Blutdruck kehrt bei beiden nach 11—12 Minuten zum Ausgangswert zurück, um bei den Untrainierten bis 30 Minuten nach Belastung wieder anzusteigen. Da die Sportler sofort nach Belastung ein stärkeres Absinken des diastolischen Blutdrucks und in der Erholungsphase ein langsames Abfallen des systolischen Blutdrucks, sowie kein Ansteigen des diastolischen Blutdrucks über den Ausgangswert erkennen lassen, bleibt mithin ihre Blutdruckamplitude im ganzen Verlauf des Versuchs größer.

Nach vorheriger Gabe von 0,04 g Veritol liquidum zeigen die Blutdruckwerte 40—50 Sekunden nach dem Lauf sowohl bei Trainierten als auch bei Untrainierten keine starken Abweichungen gegenüber der Versuchsreihe ohne Veritol. Die Untrainierten haben nach Veritol im Mittel eine Erhöhung des systolischen Blutdrucks um 2 und des diastolischen Blutdrucks um 4 mm Hg gegenüber den Werten ohne Veritoleinwirkung. Die Trainierten steigern den systolischen um 6 und senken den diastolischen Blutdruck um 1 mm Hg. In der Erholungsphase läßt sich die Wirkung des Veritols auf den Blutdruck deutlicher erkennen. Hier fällt der systolische Druck beim Untrainierten langsamer ab als im Vorversuch. Der Ruhewert wird erst bei 20—21 Minuten erreicht, also wesentlich später als ohne Veritol. Der diastolische Blutdruck, der sich anfangs nur gering senkt, erreicht bei 6 Minuten den Ruhewert und steigt dann weiter noch geringfügig an. Eine stärkere Erhöhung des diastolischen Blutdrucks wurde auch im Einzelfalle nicht beobachtet.

Der trainierte Läufer reagiert im wesentlichen ebenso. Auch bei ihm ist die Blutdruckamplitude unter Veritolwirkung vergrößert.

Eine Betrachtung und Vergleich der Blutdruckamplitude zwischen beiden Gruppen ergibt nach vorheriger Veritolgabe 3 Min 55 Sek. bis 4 Min. 25 Sek. nach Belastung beim Untrainierten eine Vergrößerung um 14 mm Hg, während der Sportler nur um 7 mm Hg vergrößert. Aus den graphischen Darstellungen ist zu ersehen, daß dies vorwiegend durch den langsameren Abfall des systolischen Blutdrucks erreicht wird. Beim Trainierten und Untrainierten ist somit deutlich zu erkennen, daß nach Belastung das Veritol einen wesentlichen Einfluß in der Erholungsphase ausübt. Bemerkenswert ist die geringe Beeinflussung sowohl des systolischen als auch des diastolischen Blutdrucks sofort nach dem Lauf.

Eine Veritolwirkung wurde in jedem einzelnen Falle beobachtet, doch waren gewisse Unterschiede in der Wirkungsbreite zu erkennen, die durch eine verschiedene Empfindlichkeit des Kreislaufs auf Veritol zu erklären sind.

Auf das Verhalten der Pulsfrequenz übt das Veritol in der Dosierung von 0,04 g liquidum keinen großen Einfluß aus.

Nach Veritolgabe ist die Frequenz bei den Untrainierten sofort nach Belastung und auch in der Erholung im ganzen niedriger. Bei den Trainierten beobachtet man bis 30 Minuten nach dem Lauf keinen Unterschied gegenüber den Versuchen ohne Veritol. Doch ist hervorzuheben, daß sowohl mit als auch ohne Frequenzverlangsamung die Blutdruckamplitude in jedem Falle größer bleibt.

Das Elektrokardiogramm.

Die elektrische Stromkurve wurde in Ruhe, sofort nach Belastung, nach 1, 3, 5, 10, 20 und 30 Minuten in allen drei Ableitungen geschrieben. Gemessen wurden Frequenz, Überleitungszeit in Ableitung II und die Höhe der Endschwankung (T) in allen Ableitungen.

Das durchschnittliche Verhalten der Überleitungszeit mit und ohne Veritol zeigt Tabelle 6. Durch schnellen Filmablauf (100 mm pro Sekunde) ist es möglich, eine ganz genaue Messung von P—Q vorzunehmen. (Hellige Universal Spannungs-Elektrokardiograph.)

Trainierte und Untrainierte zeigen mit 0,163 bzw. 0,168 im Mittel praktisch für P—Q den gleichen Ausgangswert.

Bei den Untrainierten tritt sofort nach der starken körperlichen Leistung eine deutliche Verkürzung auf, die Überleitungszeit beträgt durchschnittlich 0,135 Sekunden. Im Laufe der Erholungsphase bildet sich diese Verkürzung wieder zurück. Im Mittel wird der Ausgangswert nicht überschritten; dagegen ist darauf hinzuweisen, daß 1, 3 und 5 Minuten nach Belastung, bei der noch stark erhöhten Frequenz, die gefundenen Werte der Überleitungszeit für diese Zeitphasen eine relative Verlängerung bedeuten.

Tabelle 6. Pulszahl und Überleitungszeit nach Belastung mit 2500-m-Lauf ohne und mit Veritol liqu. 0,04 g.
Mittelwerte von fünf untrainierten und fünf trainierten Läufern.

	Min. nach Lauf							
	Ruhe	Sofort	1	3	5	10	20	30
				a) Pulszahl.				
Untrainierte ohne Veritol	67	147	119	112	106	100	93	88
Untrainierte mit 0,04 g Veritol liqu.	67	141	118	106	101	97	88	83
Trainierte ohne Veritol	53	133	109	101	97	90	83	77
Trainierte mit 0,04 g Veritol liqu.	53	132	107	101	97	93	83	75
				b) Überleitungszeit.				
Untrainierte ohne Veritol	0,168	0,135	0,159	0,163	0,161	0,159	0,162	0,164
Untrainierte mit 0,04 g Veritol liqu.	0,168	0,136	0,155	0,152	0,154	0,150	0,156	0,161
Trainierte ohne Veritol	0,163	0,135	0,159	0,162	0,170	0,174	0,169	0,167
Trainierte mit 0,04 g Veritol liqu.	0,163	0,138	0,156	0,158	0,165	0,162	0,166	0,165

Mittlere Laufzeit über 2500 m.

Untrainierte ..... 10,41 Minuten.
Trainierte ..... 8,61 Minuten.

In einem Falle wurde der Ausgangswert im Verlauf der Erholung überschritten bei gleichzeitig noch stark erhöhter Frequenz.

Nach Gabe von 0,04 g Veritol liquidum sehen wir bei den Untrainierten sofort nach Belastung keine Änderung; jedoch bleibt $P-Q$ im Vergleich zum Vorversuch im ganzen Verlauf der Erholung kürzer. Hierbei ist zu betonen, daß die Frequenz jetzt nach Veritol im ganzen Verlauf der Erholungsphase niedriger ist.

Die Trainierten ergeben ein ähnliches Bild. Die Werte für $P-Q$ sind nach Veritol im Verlauf der Erholung kleiner bei nur geringen Unterschieden in der Frequenz. Bei H. findet sich 10 Minuten nach dem Lauf mit Veritol eine stärkere Pulsverlangsamung als ohne Veritol. Die Überleitungszeit ist trotzdem unter der Veritolwirkung kürzer! Man beobachtet bei den Trainierten in der Erholungsphase eine Verlängerung der Überleitungszeit über den Ruhewert hinaus, die bei den Untrainierten nicht in Erscheinung tritt. Hierbei muß berücksichtigt werden, daß die Durchschnittslaufzeit der Sportler 8,61 Minuten betrug, während die Untrainierten für die gleiche Strecke 10,41 Minuten benötigten. H., der die größte Überschreitung des Ruhewertes hat, durchlief die Strecke in 8,23 Minuten.

Reindell konnte in systematisch durchgeführten Belastungsversuchen nachweisen, daß gerade in der Erholungsphase das Verhalten der Überleitungszeit gewisse Anhaltspunkte für den Grad der Ermüdbarkeit des Herzens liefert. Die wesentlich besseren Laufzeiten weisen darauf hin, daß

die Trainierten sich mehr zugemutet haben als die Untrainierten. Hinzu kommt noch, daß sie versuchten, gegenseitig ihre Zeiten zu unterbieten. Aus diesem Grunde möchten wir auch hier speziell bei H. die etwas verlängerte Überleitungszeit in der Erholungsphase als Ausdruck der Ermüdung des Herzens deuten.

Das Verhalten der Endschwankung.

Die Höhe der Endschwankung wurde in mm gemessen. Der Ausgangswert für *T* wurde gleich 100 gesetzt, und die Größenänderungen von *T* nach Belastung und in der Erholungsphase entsprechend darauf bezogen. So findet eine Vergrößerung ihren Ausdruck in Zahlen über 100 und eine Verkleinerung in Werten von 99—0 bzw. —100, wenn *T* um seinen ursprünglichen Wert negativ wird.

Tabelle 7. Höhe der Endschwankung *T* in Ableitung I, II, III. Untrainierte und Trainierte ohne und mit 0,04 g Veritol liqu. nach 2500-m-Lauf.

Zeit in Min.:	Ruhe			Sofort			1			3		
Ableitung:	I.	II.	III.	I.	II.	III.	I.	II.	III.	I.	II.	III.
Untrainierte,												
ohne	100	100	100	124,7	113,2	116,3	112,6	100,7	126,6	89,7	64,8	81,2
mit	100	100	100	117,8	89,3	101,8	117,3	104,2	114,9	90	77,8	93,4
Trainierte,												
ohne	100	100	100	79,8	105,1	132,7	75,6	90,4	117	72,3	72,6	89,8
mit	100	100	100	84,6	89,9	151,9	86,9	116	157,8	85,8	93	85

Zeit in Min.:	5			10			20			30		
Ableitung:	I.	II.	III.	I.	II.	III.	I.	II.	III.	I.	II.	III.
Untrainierte,												
ohne	75,6	59,4	51,6	84,6	66,7	65,9	96,7	75	86,7	88,8	72	79,1
mit	95,6	65,8	70,8	117,3	83,7	60,6	104,2	79,6	67,8	92,3	68	69,8
Trainierte,												
ohne	61,7	53,7	3,3	74,4	67,7	32,9	74,5	64,8	- 8,4	75,3	60,5	- 28,5
mit	72,8	81,9	85,2	83,6	67,7	62,5	82,7	76,5	78,6	79,4	70,2	75,7

Ableitung I.

Untrainierte: *T* I ist sofort nach dem Lauf im Durchschnitt ohne Veritol beträchtlich erhöht, gegenüber dem Ruhewert. In der Folgezeit sinkt es ab, um bei 5 Minuten am stärksten unter dem Ausgangswert zu liegen. Darauf steigt es wieder an, und erreicht bei 20 Minuten praktisch wieder den Ausgangswert.

Nach Gabe von 0,04 g Veritol liquidum vergrößert sich *T* I bei „sofort" nicht so stark und sinkt bei 5 Minuten nicht im gleichen Maße ab. Hier unterschreitet es den Ruhewert nur um 4 %, steigt bis 10 Minuten auf 117 und erreicht dann allmählich den Ruhewert.

Beim Trainierten beobachtet man folgendes: „sofort" nach Belastung findet sich eine Verkleinerung von T I um 20 %, bei 3 Minuten um 28 % und bei 5 Minuten um 38 %. Hier ist der tiefste Wert erreicht. Bei 10 Minuten wird T I allmählich wieder höher und erreicht nicht ganz den Ruhewert.

Unter Veritolwirkung ist zu betonen, daß nach der starken körperlichen Leistung die Verkleinerung von T I nicht so ausgeprägt ist.

Ableitung II.

Auch in Ableitung II läßt Veritol einen erheblichen Einfluß auf die Endschwankung sowohl beim Trainierten als auch beim Untrainierten erkennen. Wiederum zeigen die Läufer beider Gruppen in der Erholungsphase eine starke Verkleinerung der Endschwankung, die bei 5 Minuten am deutlichsten in Erscheinung tritt. Nach Veritolgabe ist auch hier wieder bei beiden die Abflachung wesentlich geringer.

Ableitung III.

Untrainierte: Sofort nach Belastung beträgt der durchschnittliche Wert für T III 116, bei 1 Minute 127. Wie in Ableitung I und II, so kommt es auch hier zu einer starken Verkleinerung, die bei 5 Minuten mit 52 am stärksten ausgeprägt ist.

Nach Veritolgabe verhält sich die Höhe von T III 1 Minute nach dem Lauf ebenso wie im Vorversuch. Bemerkenswert ist jedoch, daß die Verkleinerung auch von T III, die bei 5 Minuten ohne Veritol mit 52 am deutlichsten ist, unter Veritolwirkung mit 71 wesentlich geringer bleibt. Bei 10 Minuten ist hier der niedrigste Wert erreicht mit 61 gegenüber 66 ohne Veritol, was praktisch als annähernd gleich zu betrachten ist.

Trainierte: Die Beurteilung von aus mehreren Personen gemittelten Werten wird dadurch erschwert, daß zwei Versuchspersonen ohne Veritol in der Erholungsphase ein Negativwerden der Endschwankung zeigen. Da dieses sehr stark ist, werden auch die Durchschnittswerte von T III in diesem Zeitabschnitt negativ. Das Verhalten von T III kommt in Tabelle 7 zum Ausdruck. Es ist bemerkenswert, daß 30 Minuten nach Belastung die Ausgangswerte für T III noch nicht erreicht sind. Unter Veritolwirkung ist die Abflachung geringer. Ein Negativwerden wird nicht beobachtet.

Bei dem trainierten Langstreckenläufer H. (s. Abb. 1, a—d) kommt es in der Erholungszeit nach dem Lauf zu einem negativen T III, das in Ruhe nur angedeutet war. Obwohl beim zweiten Versuch (mit Veritol) das Ausgangs-EKG in T III negativ war, findet man jetzt nach Belastung bei vorheriger Veritolgabe in der Erholungsphase T III positiv und T II nicht so stark abgeflacht. H. hat in den 8 Tagen zwischen den Versuchen scharf trainiert, sich jedoch 2 Tage vor dem zweiten Versuch mit Veritol auf dem Sportplatz nur leicht betätigt. Ob das scharfe Training auf die

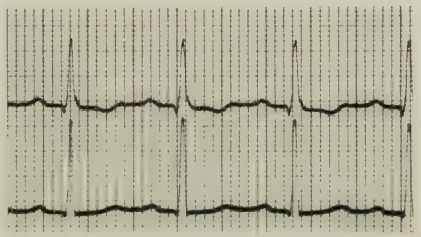
Ruhewerte von T III — im ersten Versuch angedeutet negativ, im zweiten Versuch stark negativ — einen Einfluß hat, soll hier nicht erörtert werden.

Das Verhalten des Blutzuckers zeigt Tabelle 8.

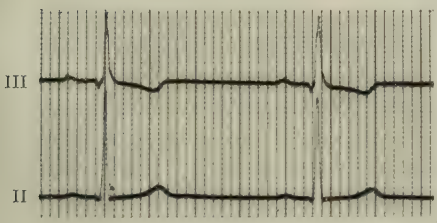
Tabelle 8. Blutzucker in mg%
nach 2500-m-Lauf mit und ohne Veritol liqu. 0,04 g.

	Zeit in Min.			
	Ruhe	2–3	13	31–32
Untrainierte, ohne	82	115	103	93
mit	87	116	111	94
Trainierte, ohne	94	139	125	107
mit	88	142	125	103

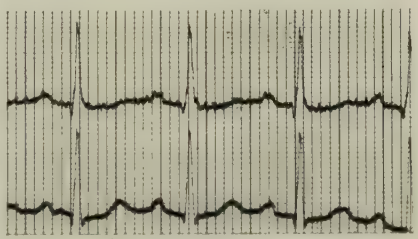
a) Ruhe-EKG des Läufers H.



c) 5 Min. nach 2500 m-Lauf ohne Veritol.



b) Ruhe-EKG des Läufers H.



d) 5 Min. nach 2500 m-Lauf nach Gabe von 0,04 g Veritol liquidum.

Abb. 1. Elektrokardiographische Kontrollen bei dem Langstreckenläufer H. ohne und mit 0,04 g Veritol liquidum nach je einem 2500 m-Lauf.

Der Blutzucker wurde in Ruhe, sowie 2–3, 13 und 31–32 Minuten nach dem Lauf bestimmt. Die Ruhewerte schwankten naturgemäß an den verschiedenen Versuchstagen.

Bemerkenswert ist, daß bei nur geringen Unterschieden in den Ruhewerten der beiden Läufergruppen (82–87 mg% Untrainierte gegenüber 88–94 mg% Trainierte), bei den Trainierten der Blutzuckergehalt stärker anstieg, als bei den Untrainierten (142 mg% gegenüber 116 mg% 2–3 Minuten nach dem Lauf). Ein Vergleich der gemittelten Werte ohne und mit Veritol ergibt eine Verschiedenheit bis zu 8 mg%, die kaum im

Sinne eines den Blutzucker erhöhenden Einflusses durch das Veritol zu deuten ist.

Da verschiedene Verfasser über subjektive Störungen nach Veritol berichten, erscheint es uns wichtig, in diesem Zusammenhange auf das Befinden der einzelnen Versuchspersonen während des Laufes und in der Erholungsphase hinzuweisen. Aus der verhältnismäßig kleinen Zahl der Versuchspersonen dürfen natürlich keine zu weit gehenden Schlüsse gezogen werden, obwohl es bemerkenswert ist, daß die Angaben alle nach einer Richtung hinlaufen.

Über Mißempfindungen wurde in keinem Falle geklagt. Die Leistungsfähigkeit unter Veritol erschien gesteigert. Diese objektive Feststellung konnten wir insofern treffen, als von uns jede Runde, die der einzelne Läufer zurückzulegen hatte, mit der Stoppuhr festgelegt wurde. In jedem Falle mußten wir die Laufgeschwindigkeit für einige Runden nach Veritol herabsetzen, um hinsichtlich der körperlichen Leistung „mit" und „ohne Veritol" die gleichen Versuchsbedingungen (d. h. Rundenzeiten) zu schaffen. Einstimmig wurde versichert, daß die Erholung nach Veritol besser war.

Besprechung der Ergebnisse.

Veröffentlichungen der letzten Zeit von Büchner und Meessen haben gezeigt, daß die im Kollaps auftretende Veränderung der zirkulierenden Blutmenge auch zu einer herabgesetzten Durchblutung der Herzkranzgefäße führt, was wiederum durch ganz bestimmte Abweichungen im EKG zum Ausdruck kommt. Histologisch wurden anschließend Nekrosen im Herzen gefunden, die darauf hinweisen, wie schwerwiegend der orthostatische Kollaps und die dadurch hervorgerufene Coronarinsuffizienz sich auf die Herzmuskel auswirken können. Obwohl diese Beobachtungen im Tierexperiment gewonnen wurden und man mit Rückschlüssen auf das menschliche Herz vorsichtig sein muß, zeigen doch Untersuchungen von Reindell aus jüngster Zeit, daß das Verhalten des peripheren Kreislaufs und seine Auswirkung auf das Herz nach starken körperlichen Leistungen nicht unterschätzt werden darf. Elektrokardiographische und kymographische Beobachtungen bei gleichzeitiger Messung des Blutdrucks, die bei einigen Leuten über Jahre wiederholt wurden, weisen darauf hin, daß die immer wieder herabgesetzte Durchblutung des Coronarsystems durch hypotone Regulationsstörung schließlich zu einer herabgesetzten Leistungsfähigkeit führen kann. Zum Ausdruck kommt diese Regulationsstörung des Kreislaufs nach starken körperlichen Leistungen in einem Absinken des systolischen Blutdrucks unter den Ausgangswert schon sehr kurze Zeit nach der Belastung und dem Ansteigen des diastolischen Druckes über den Ausgangswert hinaus.

Im EKG beobachtet man sehr starkes Abflachen oder Negativwerden der Endschwankung in mehreren Ableitungen. Untersuchungen von Reindell und Baurhenn gemeinsam mit v. Braunbehrens lassen auf

eine günstige Beeinflussung des Blutdrucks und damit bessere Durchblutung des Herzens nach körperlicher Belastung bei vorheriger Gabe von Veritol-Cardiazol-Traubenzucker in Substanz schließen. Im Anschluß hieran sollen unsere jetzigen Untersuchungen den Einfluß des Veritol liquidum auf den Kreislauf bei Leuten verschiedenen Trainingsgrades überprüfen. Danach zeigt der Trainierte sofort nach Belastung ein stärkeres Sinken des diastolischen Drucks als der Untrainierte, was bei gleichem Anstieg des systolischen Drucks bei den Trainierten zu einer stärkeren Vergrößerung der Blutdruckamplitude führt. Vor allem in der Erholungsphase tritt das unterschiedliche Verhalten des Kreislaufs deutlich in Erscheinung. Durch schnelles Absinken des systolischen Drucks und stärkeres Ansteigen des diastolischen Drucks zeigt der Untrainierte in der ganzen Zeit der Erholungsphase eine wesentlich kleinere Blutdruckamplitude als der Trainierte. Dieses Verhalten des Blutdrucks ist dadurch zu erklären, daß es bei Untrainierten nach starken körperlichen Leistungen zu einem leichten Absacken des Blutes in die erweiterte Peripherie kommt. Der venöse Zustrom zum Herzen nimmt ab, wodurch die systolische Blutdrucksenkung zustande kommt. Hierdurch wird auch die Durchblutung des Herzens in Mitleidenschaft gezogen. Die Veränderungen, die wir hierbei gleichzeitig im EKG beobachten, starke Abflachung bis Negativwerden der Endschwankung, in mehreren Ableitungen starke Verlängerung der Systolendauer und der Überleitungszeit, sind einmal durch die geringe Blutversorgung, dann aber auch durch die starke Ermüdung des Herzens nach der körperlichen Leistung bedingt. Veritol scheint nun bei solchen Störungen den Kreislauf günstig zu beeinflussen, vor allem durch eine Tonisierung der peripheren Gefäße und durch die Förderung des Blutrückflusses zum Herzen. Reindell, Baurhenn und v. Braunbehrens wiesen in ihren Untersuchungen nach mittleren Belastungen darauf hin, und auch unsere Beobachtungen nach einem Lauf von 2500 m scheinen dies zu bestätigen. Auch wir beobachteten nach 50 Kniebeugen einen erheblichen Einfluß von 0,04 g Veritol liquidum auf den Blutdruck, der sich über die ganze Zeit der Erholungsphase erstreckte. Die Versuchspersonen erholten sich schnell. Nach dem Lauf tritt die Veritolwirkung auf den Blutdruck ebenso deutlich hervor. Der Blutdruck wird bei Untrainierten stark durch Veritol beeinflußt, da auch bei ihnen die Regulationsstörung nach der hypotonen Seite zu stärker ausgebildet ist. Da der diastolische Druck im ganzen Verlauf der Erholungsphase unter Veritol nicht wesentlich stärker ansteigt, der systolische Druck aber langsamer abfällt, darf man annehmen, daß die Vergrößerung der Blutdruckamplitude durch die jetzt nach Veritol vergrößerte, zirkulierende Blutmenge bedingt ist. Gleichzeitig beobachtet man jetzt im EKG auch einen Einfluß des Veritols auf die Endschwankung. Nach vorheriger Veritolgabe ist die Abflachung der Endschwankung in allen Ableitungen, die 3—10 Minuten nach Belastung sehr stark ausgeprägt ist, bei der gleichen körperlichen

Leistung wesentlich geringer. So zeigt H. 3—5 Minuten nach dem Lauf ohne Veritol eine starke Verkleinerung von T II und ein negatives T III. Nach vorheriger Veritolgabe ist nach der gleichen körperlichen Leistung zu demselben Zeitpunkt der Erholungsphase T III positiv und T II nicht so stark abgeflacht.

Die Veränderungen im EKG bieten uns Anhaltspunkte für die starke körperliche Anstrengung und damit verbundene Belastung für das Herz. Wir müssen aber immer daran denken, daß sowohl eine primäre Schädigung des Herzens als auch eine für kurze Zeit herabgesetzte Durchblutung der Coronarien durch ein Versagen des peripheren Kreislaufs diese Abweichungen der elektrischen Stromkurve herbeiführen können (Reindell, Delius). Wenn wir auch nicht ohne weiteres aus dem EKG auf den Sitz der Störung schließen können, dürfen wir doch aus dem Verhalten der Endschwankung auf eine bessere und schnellere Erholung des Herzmuskels unter Veritolwirkung schließen. Im selben Sinne ist auch das Verhalten von $P-Q$ zu bewerten. Nimmt mit der Stärke der Belastung in der Erholungsphase bei noch stark erhöhter Frequenz $P-Q$ an Länge zu, so daß sogar der Ausgangswert noch überschritten werden kann, so darf man die Verkürzung von $P-Q$ nach Veritolwirkung, die durchschnittlich in der ganzen Zeit der Erholungsphase zu beobachten ist, ebenfalls als Hindernis einer besseren Erholung des Herzens auffassen.

Nach unseren Beobachtungen scheint Veritol ein geeignetes Mittel zu sein, um bei Kollapsgefährdeten, wenn körperliche Leistungen gefordert werden, prophylaktisch einzugreifen. Man darf aber hierbei nicht übersehen, daß eine zu starke Dosierung zu einer Erhöhung des peripheren Widerstandes führen kann, was wiederum für das Herz eine zusätzliche Belastung bedeuten würde. Aus diesem Grunde gilt es, auf breiter Basis die Höhe der optimalen Dosis festzulegen. Bei unserer Dosierung wurden irgendwelche Störungen nicht beobachtet; doch ist die Empfindlichkeit dem Veritol gegenüber unterschiedlich.

Zusammenfassung.

1. Im Hinblick auf die Tatsache, daß es nach starken körperlichen Leistungen durch Versagen des peripheren Kreislaufs zu kollapsähnlichen Zuständen kommen kann, wird der Versuch unternommen, solche hypotonen Regulationsstörungen des Kreislaufs, die mit einem Absinken des Blutdrucks und Verkleinerung der Amplitude verbunden sind, durch Veritol liquidum per os zu beeinflussen.

2. In Ruhe führte Veritol liquidum per os 0,06 g bei zehn gesunden Versuchspersonen zu einer Blutdrucksteigerung von 123/75 zu 156/93. Sie setzte nach 20 Minuten ein und erreichte den Höchstwert 50 Minuten nach Gabe des Mittels.

3. Veritol liquidum per os 0,04 g läßt bis 10 Minuten nach 50 Kniebeugen einen deutlichen Einfluß auf den Blutdruck erkennen. Durch Ver-

größerung des systolischen Drucks bei gleichbleibendem diastolischen Druck wird die Blutdruckamplitude vergrößert. Derselbe Einfluß des Veritols auf den Blutdruck wurde nach 2500-m-Läufen bei Langstreckenläufern und sportlich Ungeübten beobachtet. Die Wirkung war bei den Untrainierten, die nach starken erschöpfenden Leistungen zu hypotonen Regulationsstörungen neigen, eine stärkere. Die gleichzeitig durchgeführte elektrokardiographische Untersuchung ließ unter Veritolwirkung aus dem Verhalten der Endschwankung und Überleitungszeit auf eine bessere Erholung des Herzens nach der Belastung schließen. Subjektive Störungen wurden nach Veritolgabe nicht beobachtet; dagegen war auch die subjektive Erholung nach Veritol eine bessere.

Breitere Untersuchungen unter besonderer Berücksichtigung der Dosierung werden gefordert.

Schrifttum.

1) Aschenbrenner u. Codas-Thompson: Z. Klin. Med. **133**, 483 (1938). — 2) Büchner, Weber u. Haager: Coronarinfarkt u. Coronarinsuffizienz. Leipzig, Georg Thieme, 1935. Büchner: Klin. Wsch. **1937**, II. — 3) Klostermeyer u. Johnson: Ebenda **1937**, S. 1724. — 4) Mügge: Ebenda **1937**, S. 1241. — 5) Reindell: Dtsch. Arch. klin. Med. **182**, Heft 5/6. — 6) Reindell, Baurhenn, v. Braunbehrens: Z. Klin. Med. **135**, 3 (1938). — 7) Rein: Klin. Wschr. **1937**, S. 700. — 8) Schellong: Ebenda **1930**, S. 1340; **1932**, S. 53. — 9) Zipf: Ebenda **1937**, S. 1340.

Aus dem Pharmakologischen Laboratorium der Asta Aktiengesellschaft Chemische Fabrik, Brackwede i. W.

Über die Prüfung von Beruhigungsmitteln am Menschen.

Von

R. v. Werz und **G. Homann.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 25. Juni 1939.)

Es ist das Verdienst von Kochmann (1) darauf hingewiesen zu haben, daß die Sedativa entsprechend ihrer klinischen Verwendung und gemäß allgemeinen pharmakologischen Grundsätzen nicht an normalen, sondern an erregten Tieren geprüft werden müßten. Er versuchte dieser Forderung zu entsprechen, indem er in Versuchen am Kaninchen erst die normale Lebhaftigkeit der Tiere und sodann deren Zunahme unter einer bestimmten Coffeindosis ermittelte. Als 100%igen sedativen Effekt definierte er die Wirkung derjenigen Menge, welche die zusätzliche (Coffein-) Erregung voll aufzuheben vermag. In den Versuchen, über die hier berichtet wird, haben wir versucht, Bedingungen zu finden, welche es gestatten würden, erregende Effekte und gegebenenfalls ihre Aufhebung durch Sedativa am Menschen zu bestimmen. Obwohl auch hier die Coffeinerregung nur ein mehr oder weniger willkürliches Surrogat für die vielfältigen klinischen Indikationen der Sedativa darstellen kann, so würden doch gerade für die Frage der Sedativa Versuche am Menschen eine weit tragfähigere Grundlage abgeben können als der Tierversuch. Eine Lösung der gestellten Aufgabe scheint theoretisch auf zwei Wegen möglich. Erstens könnte versucht werden, den Grad der „Nervosität" dadurch unmittelbar zu erfassen, daß das Ausmaß der Reaktion auf bestimmte meßbare Reize, z. B. Schreckreiz, bestimmt wird. Zweitens könnte das motorische Verhalten der Versuchsperson, also das Ausmaß ihrer größeren oder geringeren „Unruhe" zu einem mittelbaren Maßstab der „Erregung" verwandt werden. So unsicher letztere Schlußfolgerung auf den ersten Blick erscheint, so muß man sich andererseits daran erinnern, daß sich die klinische Diagnose selbst häufig auf diesem Symptom aufbaut. Steckt doch in dem Wort Beruhigung bezeichnenderweise primär der Hinweis auf dieses motorische Verhalten.

Versuche, das Ziel auf dem ersten Wege zu erreichen, indem wir uns des sogenannten psychogalvanischen Hautreflexes bedienten, schlugen nach längeren Bemühungen aus zahlreichen Gründen fehl. Einer dieser Gründe bestand in dem unübersehbaren psychologischen Faktor der „inneren

Disposition", mit welchem Fehler alle experimentell-psychologischen Methoden unvermeidlich behaftet sein müssen und der sich auch durch sorgfältige Auswahl der Versuchspersonen, Ablenkung der Aufmerksamkeit usw. niemals ganz ausschalten läßt. Dazu kam, daß der psychische Wert eines Reizes von gleicher physikalischer Energie niemals konstant ist, sondern eben von diesen inneren Faktoren, wie z. B. der „Gewöhnung" an die Situation usw., in undurchsichtigster Weise abhängt, weil eben eine unübersehbare Verkettung physikalischer, physiologischer und psychologischer Faktoren vorliegt.

Nachdem wir deshalb diesen ersteren Weg als grundsätzlich ungangbar aufgegeben und erkannt hatten, daß die auf diese Weise erzielbaren Ergebnisse im besten Falle nur scheinbar exakt sein können, entschlossen wir uns, die motorische Unruhe bei einer bestimmten Willkürhandlung der Auswertung zugrunde zu legen. Wir schufen uns hierfür folgendes einfache Verfahren:

Methode.

Die Versuchsperson erhält die Aufgabe, einen nassen Baumwollfaden von bestimmter Länge in ein vertikal aufgestelltes, mit Längsteilung versehenes Glasrohr ohne Berührung der Wand so tief wie möglich einzuführen. Im Augenblick der Berührung haftet der nasse Faden der Rohrwandung an, und die abgelesene Eintauchtiefe ist ein Maß für Ruhe und Konzentration der Versuchsperson. Durch die Länge des Fadens bzw. den Durchmesser des Rohres, der in unseren Versuchen mit 20 mm konstant gehalten wurde, kann die Schwierigkeit der Aufgabe an die individuelle Geschicklichkeit der Versuchsperson angepaßt werden.

Von Wichtigkeit ist, daß die Ergebnisse nicht durch Ermüdung oder nachlassende Aufmerksamkeit beeinträchtigt werden, weshalb wir nach je zweimaligem „Eintauchen" eine obligatorische Pause von 1 Minute strengstens einhalten ließen. Bei einer bestimmten Versuchsperson kamen z. B. je nach der Länge der benutzten drei Fäden folgende Werte zustande:

Tabelle 1. Leistungsprüfung mit drei Fäden (Versuchsperson ungeübt).

Fadenlänge in cm:	31	35	40
„Leistung"	11,5	8,5	5,5
„	15,5	8,0	5,5
„	17,0	8,0	9,0
„	14,5	7,0	6,0
„	11,5	11,5	8,5
„	16,5	8,5	7,5
Mittelwert	14,4	8,6	7,0

Wie wir uns überzeugten, kommt man für einen Faden meist schon nach sechs Bestimmungen zu einem Mittelwert, der für die Erregungslage im Augenblick des Versuchs bezeichnend ist und der dem wahren Mittelwert (aus sehr vielen Versuchen) bereits recht nahe kommt; deshalb ließen wir mit jedem Faden sechs Bestimmungen ausführen, in jeder Prüfung also 18 Bestimmungen. An sich könnten die Versuche mit nur einem Faden durchgeführt werden, doch gestattet die Benutzung von mehreren Fäden, wie wir später sehen werden, eine größere Sicherheit in der Beurteilung der Effekte. Die Länge der Fäden soll so gewählt werden, daß die Versuchsperson den längsten Faden anfänglich nur mit Schwierigkeit gerade einige cm in das Rohr bringen kann, so daß auch mit eintretender Übung die Aufgabe dauernd schwierig bleibt und man nicht gezwungen ist, diesen Faden später verlängern zu müssen. Die Aufgabe muß stets so schwierig bleiben, daß sie immer die

volle Aufmerksamkeit der Versuchsperson in Anspruch nimmt, denn nur an diesem empfindlichen Kriterium können auch schwache Effekte noch erkannt werden.

In Tabelle 2 sieht man an der Zunahme der Mittelwerte, daß die Versuchsperson es im Laufe der Zeit immer besser „lernt", die gestellte Aufgabe zu lösen.

Tabelle 2. Einfluß der Übung (Mittelwerte).

Versuchstag	Fadenlänge in cm				Versuchstag	Fadenlänge in cm			
	25	31	35	40		25	31	35	40
	Eintauchtiefe in cm					Eintauchtiefe in cm			
1.	8,6	6,3	4,3	—	8.	—	17,9	17,2	13,2
2.	7,6	9,5	9,1	—	9.	—	18,9	17,0	17,5
3.	15,9	13,4	13,4	—	10.	—	16,7	13,7	12,2
4.	14,7	14,1	9,3	5,8	11.	—	16,5	16,4	15,2
5.	16,8	11,8	15,3	7,4	12.	—	19,8	19,3	19,0
6.	19,2	12,6	13,7	14,3	13.	—	21,0	19,1	18,1
7.	—	18,6	12,0	13,4	14.	—	20,8	18,9	18,7

Erst nach einer jeweils verschiedenen Anzahl von Versuchen wird das Leistungsoptimum erreicht, welches dann durch weitere Übung nicht mehr verbessert werden kann. Diese Vorversuche nahmen bei täglicher Übung durchschnittlich 1—2 Wochen in Anspruch. Erst nachdem die Leistungen keinen deutlichen Anstieg mehr zeigten, wurden die betreffenden Versuchspersonen zu pharmakologischen Versuchen herangezogen.

Prinzip der Auswertung.

Auch wenn dieses Leistungsplateau erreicht worden ist und keine weitere Übung mehr stattfindet, schwanken die Leistungen der gleichen Versuchsperson von einem zum anderen Tag unvermeidlich innerhalb gewisser Grenzen, auch dann, wenn die Versuche wie in unserem Fall jeweils zu der gleichen Tageszeit und unter möglichst gleichbleibenden äußeren Bedingungen durchgeführt werden.

Tabelle 3. Normalwerte an verschiedenen Tagen.

Datum	Fadenlänge in cm		
	31	35	40
	Eintauchtiefe in cm		
30. VIII.	21,0	19,4	17,8
31. VIII.	20,8	20,4	19,2
1. IX.	18,8	18,5	18,6
2. IX.	19,1	18,8	18,0
5. IX.	21,0	19,8	18,3

Dieser Einfluß der „Disposition", der ja einer banalen Alltagserfahrung entspricht, tritt bekanntlich bei jeder Art leistungsphysiologischer Untersuchungen als ein nicht zu vernachlässigender Faktor auf (2). Diese individuellen Schwankungen der Ausgangslage machen es unmöglich, etwa aus den „Normal"-Versuchen einer Versuchsperson den Mittelwert zu bilden und diesen als Vergleichsbasis für den pharmakologischen Hauptversuch zu benutzen. Ist es doch verständlich, daß nicht nur das Ausmaß, sondern auch die Richtung eines pharmakologischen Effektes von der Ausgangslage abhängen kann. So wird eine bereits optimale Leistung pharmakologisch

im allgemeinen nur negativ beeinflußt werden können und umgekehrt werden positive Wirkungen, d. h. Leistungsverbesserungen, insbesondere durch Coffein, nur auf der Basis eines verschlechterten Zustandes zum Ausdruck kommen können (3). Da es uns nicht darauf ankam, die therapeutische Wirkung des Coffeins, sondern diejenige der Sedativa erfaßbar zu machen, mußten wir bestrebt sein, von einer „normalen" Ausgangslage auszugehen, um zunächst das Symptom der „Erregung" — gekennzeichnet durch eine unternormale Leistung — zu produzieren, weshalb auch aus unseren Versuchen selbstverständlich keine Schlüsse auf die therapeutische Wirkung des Coffeins, sondern nur auf die der Sedativa gezogen werden dürfen.

Aus alledem ergibt sich, daß für die Berechnung von Richtung und Ausmaß der zu prüfenden Effekte nicht die mittlere Normalleistung einer Versuchsperson, sondern nur die Leistung im Vorversuch des gleichen Tages als Bezugsbasis dienen darf. Es wurde deshalb stets zunächst die Normalleistung für den betreffenden Tag ermittelt und erst dann die pharmakologischen Versuche angeschlossen, dergestalt, daß diese Normalleistung jeweils = 100 gesetzt und das Ergebnis des pharmakologischen Versuchs in Prozenten dieses Wertes ausgedrückt wurde. War die Leistung des Vorversuchs gelegentlich deutlich schlechter als der durchschnittlichen Schwankungsbreite entsprach, so wurde an diesem Tage kein Versuch angestellt. Um suggestive Beeinflussung auszuschließen, wurden die zu prüfenden Stoffe derart in Kapseln verabreicht, daß die Versuchspersonen nicht wissen konnten, ob die Kapseln Coffein, Coffein + Sedativum oder ein indifferentes Pulver enthielten. Bei einem Teil der Versuche wurden die zu prüfenden Stoffe in Bouillon verabreicht.

Pharmakologische Einzelversuche.

Wie zu erwarten, kommt es bei normaler Ausgangslage unter der Wirkung von Coffein leichter zu einem Anstoßen des Fadens an die Rohrwand, so daß die Leistungswerte, ausgedrückt in cm Rohrlänge, in den meisten Fällen absinken. Als Dosis wurde durchweg die Menge von 0,1 g Coffeinum purum gegeben, wobei sich zeigte, daß der schwache Erregungseffekt dieser Dosis um so deutlicher zum Ausdruck kommt, je schwieriger die gestellte Aufgabe ist, d. h. die Coffeinwirkung tritt bei langem Faden am deutlichsten in Erscheinung. An Hand fortlaufender Prüfungen ergibt sich nun die Möglichkeit, den Verlauf dieser Coffeinwirkung in einfacher Weise graphisch darzustellen. Den typischen Effekt zeigt Abb. 1a. Das Maximum der Coffeinwirkung fiel meistens zwischen die 1.—3. Stunde, während sie nach 4 Stunden in der Regel bereits wieder abklang.

Wie erwähnt, wurden zwischen die pharmakologischen Versuche mehrfach Leerversuche eingeschaltet, bei denen die Kapseln mit indifferentem Pulver gefüllt waren. Das Verhalten der Versuchsperson in einem derartigen Leerversuch zeigt Abb. 1b. Kontrollversuche ließen erkennen, daß

einige Tage später bei der gleichen Versuchsperson die Coffeinreaktion nicht abgeschwächt ist. Als ergänzende Kontrolle wurde jedesmal die Pulsfrequenz mitverfolgt. Sie ist auf den Kurven als unterste Linie eingetragen.

Außer dem Coffein prüften wir an Hand unserer Methode auf seine eventuelle Erregungswirkung auch noch das Pyramidon, dem bekanntlich in seinen verschiedenen Kombinationen mit Barbitursäuren eine antihypnotische, zentralerregende Wirkung zugeschrieben wird.

In der Dosis von 1,0 bewirkte es nur bei einer von 6 Versuchspersonen (E) eine Leistungsabnahme um etwa 10%, alle anderen Versuchsper-

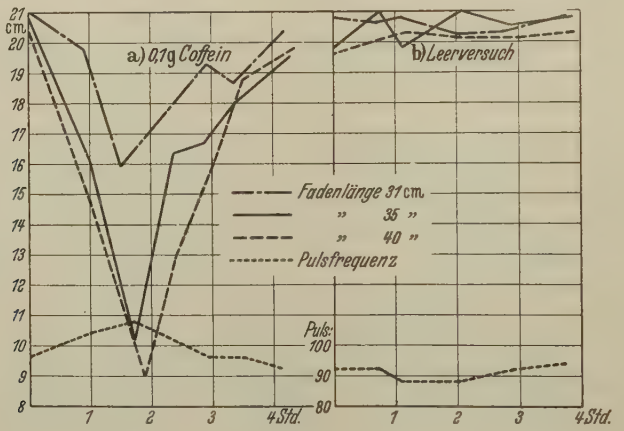


Abb. 1. Wirkung von 0,1 g Coffein im Vergleich zum Leerversuch.

sonen zeigten hingegen völlig normale Leistungen. Der Durchschnittswert aus 11 derartigen Versuchen beträgt dementsprechend 100% (s. Tabelle 6), so daß jedenfalls unsere Versuche ein motorisches Erregungsäquivalent nicht aufzeigen konnten.

Die deutliche Erfaßbarkeit der Coffeinerregung und ihre relative Regelmäßigkeit ermöglichte es nun zu prüfen, ob bzw. wieweit es gelingt, sie durch gleichzeitige Verabreichung eines Sedativums abzuschwächen. Von Sedativen prüften wir unter diesem Gesichtspunkt drei möglichst verschiedene Repräsentanten dieser Gruppe, und zwar den Baldrian, das Brom und Luminal, sowie eine gebräuchliche Mischung der Analgetica Phenacetin und Antipyrin. Diese Stoffe gaben wir mit der Coffeindosis von 0,1 g zusammen in der gleichen Oblatenkapsel bzw. beim Brom, um Magenbeschwerden zu vermeiden, in der gleichen Bouillon. Wir verwandten dazu die handelsfertigen Bouillonwürfel „Sedobrol"-Roche mit 1,1 g Natriumbromid, deren Geschmack sich nicht von einer selbsthergestellten Coffeinbouillon unterschied. Damit sich auch der Baldrian nicht durch Geruch oder Geschmack verriet, wurde er als Baldrian-„Dispert" in Form

von Dragées (3 Stück) gegeben. Als Analgeticumkombination wählten wir das im „Quadronal" vorliegende Verhältnis von 0,31 Phenacetin zu 0,37 Antipyrin, wie es zusammen mit 0,1 g Coffein in 2 Tabletten enthalten ist.

Die folgenden Kurven zeigen, daß es unter diesen Umständen wirklich gelingt, die Coffeinwirkung mit allen angewandten Sedativen mehr oder

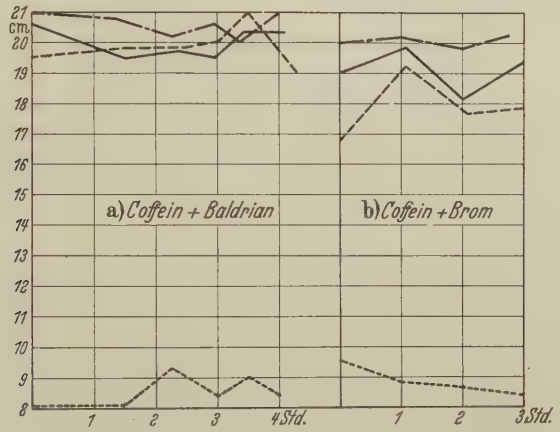


Abb. 2. Aufhebung der Coffeinwirkung durch Brom und Baldrian.

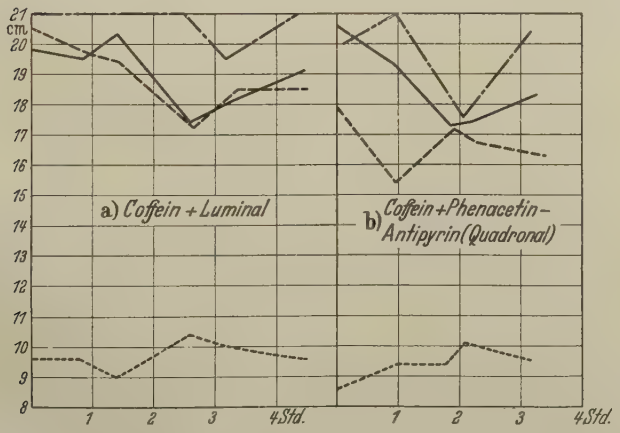


Abb. 3: Abschwächung der Coffeinwirkung durch Luminal und Phenacetin-Antipyrin.

weniger deutlich abzuschwächen (Abb. 2 und 3). Um quantitative Unterschiede gegebenfalls besser erfassen zu können, wurden Gruppenversuche mit mehreren Versuchspersonen durchgeführt.

Pharmakologische Gruppenversuche.

Da Versuche, wie die oben geschilderten, eine über viele Stunden unverminderte Aufmerksamkeit zur Voraussetzung haben (was durch die Monotonie der Versuchssituation sehr erschwert wird), eigneten sich dafür

nur wenige der verfügbaren Versuchspersonen. Bei den Gruppenversuchen, in denen eine größere Anzahl von Versuchspersonen eingesetzt werden sollte, begnügten wir uns deshalb nach Festlegung der Tagesleistung (Versuch mit 3 Fäden) mit jeweils zwei pharmakologischen Prüfungen, und zwar wurde die Leistungsprüfung nach einer Stunde sowie zwei Stunden nach Eingabe der Mittel vorgenommen. Daß bei dieser nur zweimaligen Leistungsprüfung nicht immer das Wirkungsmaximum erfaßt wird, mußte durch die größere Versuchszahl ausgeglichen werden.

Mit 6 Versuchspersonen, die von ursprünglich 20 „Freiwilligen" bis zuletzt ausharrten, wurden im Laufe der Zeit so viele Coffeinversuche durchgeführt, bis die durchschnittliche Reaktion des Betreffenden auf Coffein genügend sicher bekannt war (4—10 Versuche, insgesamt 49 Coffeinversuche).

Tabelle 4 faßt die Ergebnisse der mit einer Versuchsperson insgesamt angestellten Coffeinversuche zusammen.

Tabelle 4. Wirkung von 0,1 g Coffein (Versuchsperson E).

Datum	Leistung	Fadenlänge in cm								
		Vorversuch			1 Std. nach Coffein			2 Std. nach Coffein		
		31	35	40	31	35	40	31	35	40
10. VIII.	%	**100**	**100**	**100**	**75**	**66**	**64**	—	—	—
	cm	18,8	18,5	13,8	14,1	12,2	8,8	—	—	—
18. VIII.	%	**100**	**100**	**100**	**88**	**80**	**68**	—	—	—
	cm	17,7	15,6	16,8	14,3	12,5	11,4	—	—	—
6. IX.	%	**100**	**100**	**100**	**93**	**84**	**60**	**88**	**86**	**75**
	cm	21,0	19,8	18,3	19,5	16,6	11,3	18,5	17,2	13,8
13. IX.	%	**100**	**100**	**100**	**94**	**77**	**70**	**84**	**78**	**63**
	cm	21,0	20,8	20,4	19,8	16,1	14,3	17,7	16,3	13,0
	% Mittelwert				**88**	**77**	**66**	**86**	**82**	**69**
					78 = „Querwert"					

Der Berechnung der Wirkung liegt auch hier die Leistung des Vorversuches, die = 100 gesetzt wird, zugrunde. Wie bei den fortlaufenden Einzelversuchen (siehe oben) ist wiederum die Coffeinwirkung bei den langen Fäden am deutlichsten. Um die durchschnittliche Coffeinwirkung an einer bestimmten Versuchsperson in einer Maßzahl zusammenfassen zu können, wurden die Mittelwerte für alle drei Fäden und beide Versuchsstunden nochmals zusammengenommen. Dieser „Querwert" in Tabelle 4 besagt also, daß die hier geprüfte Spezialleistung der betreffenden Versuchsperson durch 0,1 g Coffein durchschnittlich auf 78% der Norm herabgesetzt wird.

In gleicher Weise wurden die Ergebnisse der Versuche mit Coffein + Sedativa zunächst für jede Person einzeln zusammengefaßt.

Tabelle 5. Wirkung der Sedativa auf die Coffeinerregung (Versuchsperson E).

Versuchsart	Zahl der Versuche	Fadenlänge in cm						Querwert
		nach 1 Std.			nach 2 Std.			
		31	35	40	31	35	40	
		Leistungsprozent						
Coffein	4	88	77	66	86	82	69	78
Amidopyrin	2	91	95	85	90	94	93	91
Baldrian + Coffein	5	103	93	99	94	94	98	97
Luminal + Coffein	2	99	99	98	96	86	85	91
Brom Na + Coffein	2	100	104	107	100	100	102	102
Phenacetin-Antipyrin + Coffein	2	94	91	87	87	91	93	90

Das Ergebnis geht aus der letzten Spalte hervor: Die durch Coffein auf 78 % der Norm verschlechterte Leistung wurde hier durch Baldrian fast ganz normal (97 %), durch Luminal 0,06 und die Phenacetin-Antipyrin-Mischung weitgehend der Norm genähert (91 bzw. 90 %). Bei weitem am besten schneidet bei der Versuchsperson das Brom ab, welches die Leistung sogar über den Normalwert verbesserte (102 %).

Tabelle 6 ermöglicht einen Überblick über die Reaktion aller Versuchspersonen. Die einzelnen Spalten entsprechen hier dem letzten Stab aus Tabelle 5.

Tabelle 6. Übersicht der Versuchsmittelwerte bei allen sechs Personen.

Versuchsart	Zahl der Versuche	Versuchsperson						Mittelwert
		A	B	C	D	E	F	
Coffein	49	90	89	82	93	78	85	86
Amidopyrin	11	101	100	104	103	91	100	100
Baldrian + Coffein	30	103	106	102	103	97	99	102
Luminal + Coffein	17	100	105	99	111	91	99	101
Brom Na + Coffein	15	105	106	101	101	102	106	104
Phenacetin-Antipyrin + Coffein	17	103	99	102	110	90	100	101

Zunächst ist ersichtlich, daß die durchschnittliche Leistungsverminderung durch Coffein bei den einzelnen Versuchspersonen verschieden stark ausgeprägt ist. Am „empfindlichsten" gegen Coffein war Versuchsperson E mit 22 % Leistungsabnahme, am unempfindlichsten Versuchsperson D mit nur 7 % Verschlechterung.

Ausnahmslos war bei allen 79 Versuchen die „therapeutische Wirkung" der Sedativa als weitgehende Abschwächung bzw. Aufhebung der Coffeinerregung zu erkennen, und zwar brachten alle untersuchten Sedativa die Leistungsdurchschnitte völlig zur Norm zurück. Auch in dem coffeinhaltigen Analgeticum Quadronal schlägt die erregende Wirkung des Coffeins im allgemeinen nicht durch. Eine Ausnahme bildet lediglich die

coffeinempfindliche Versuchsperson E, bei der Luminal und die Phenacetin-Antipyrin-Mischung nur zur Abschwächung der Coffeinerregung ausreichten. Die hier mehr oder weniger willkürlich gewählten Dosen der verschiedenen Sedativa zeigen sich also, gemessen an der Reaktion in 79 Versuchen, als untereinander äquivalent.

Zusammenfassung.

Es wird eine leicht ausführbare Leistungsprüfung am Menschen beschrieben, die es erlaubt, die Auswirkung erregender Effekte (Coffein) und die antagonistische Wirkung der Sedativen in ihrem zeitlichen Verlauf quantitativ zu erfassen. Auf ihre Eigenwirkung wurden Coffein (in der Dosis von 0,1 g) und Pyramidon (1,0 g) geprüft; nur bei ersterem war regelmäßig eine erregende Wirkung nachweisbar. Die Sedativa Brom, Luminal und Baldrian sowie eine Mischung aus Phenacetin-Antipyrin wurden auf ihre Fähigkeit zur Abschwächung der Coffeinwirkung geprüft.

In 79 Versuchen an 6 verschiedenen Personen gelang eine praktisch vollständige Aufhebung der Coffeinwirkung durch äquivalente Dosen sämtlicher untersuchter Stoffe.

Literatur.

1) Kochmann u. Kunze: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 421 (1935). — 2) Graf, O., u. E. A. Müller: Arb.-physiol. **10**, 337 (1938). — 3) Baur: Verh. Deutsche Pharmakol. Ges., Gießen 1936.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Westfälischen Wilhelmuniversität Münster (Prof. L. Lendle).

Untersuchungen über die Wirkungsweise des Nikotins am isolierten überlebenden Meerschweinchendarm.

Von

Rudolf Richter.

(Eingegangen am 29. Juni 1939.)

In einer früheren Arbeit[1] über die pharmakologisch wirksamen Nebenalkaloide der Tinctura Lobeliae hatte ich die starke erregende Wirkung des Nebenalkaloids B 1 am isolierten Darm beschrieben. Das Besondere dieser Darmreaktion war der scheinbar tachyphylaktische Charakter ihres Wirkungsmechanismus. Im Zusammenhang mit dem allgemeinen Problem der Tachyphylaxie versuchte ich nun in dieser Arbeit das Zustandekommen dieser Reaktion zu bestimmen. Für die Untersuchungen benutzte ich das Nikotin, da dieser Stoff die gleiche Wirkung auf den Darm zeigte wie B 1 und in seinen chemischen und pharmakologischen Eigenschaften weitgehend bekannt ist.

Meines Wissens ist A. Rydin[2] der erste gewesen, der mit Betonung auf die Gewöhnung des isolierten überlebenden Darmes an Nikotin hingewiesen hatte: „Man muß bei jeder neuen Giftzuführung die Dosis vergrößern, um den ursprünglichen dynamischen Effekt hervorzurufen, trotz zahlreicher Auswaschungen zwischen jedem Versuch“ (übersetzt). Auf das Zustandekommen dieser Gewöhnung ging Rydin nicht näher ein. Er brachte aber eine eingehende Untersuchung der pharmakologischen Wirkung des Nikotins am isolierten Kaninchendarm und Kaninchenuterus. Hiernach hemmt das Nikotin die Wirkung parasympathischer Gifte, während es den Adrenalineffekt verstärkt.

Magnus[3] wiederum hatte am isolierten Katzendarm nachgewiesen, daß das Nikotin den Auerbachschen Plexus zu erregen vermochte und auch die Arbeiten von Langley und Magnus[4] hatten beim Hund am Darm im situ gezeigt, daß Nikotin den Auerbachschen Plexus erregt. Diese letztere Wirkung entspricht der seit den Arbeiten Langleys und seiner Mitarbeiter[5] bekannten Affinität des Nikotins und verwandter Stoffe zu den Ganglien des vegetativen Nervensystems, die primär durch

---

[1] Richter, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 280 (1938). — [2] Rydin, A.: C. r. Soc. Biol. **93**, 1193 (1925); **96**, 808 (1927). — [3] Magnus: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **108**, 1 (1905). — [4] Langley u. Magnus: J. Physiol. (Brit.) **33** (1905), zit. nach Dixon in Heffters Handbuch II, 2, 631. — [5] Langley u. Dickinson: Proc. roy. Soc. Lond. **46**, 403 (1889), zit. nach Dixon in Heffters Handbuch II, 2, 662.

das Nikotin erregt und dann je nach der Dosis für kürzere oder längere Zeit gelähmt werden können. Dieser Wirkungsmechanismus kann am Erfolgsorgan, z. B. Blutdruck oder Nickhaut der Katze, zu einem sich als Gewöhnung darstellendem Verhalten führen.

Es war daher naheliegend, die tachyphylaktische Wirkung des Nikotins am isolierten Darm zunächst auch auf eine Erregung und Hemmung der intramural gelegenen Ganglien zurückzuführen zu versuchen. Die folgenden Untersuchungen zeigten aber, daß es sich um eine Wirkung auf die glatte Muskulatur handelte, die in gleicher Weise wie die Ganglien und die quergestreifte Muskulatur durch Nikotin erregt werden kann; die Reaktion muß sich dabei an dem gleichen funktionellem System abspielen wie bei den Ganglien des vegetativen Nervensystems und der quergestreiften Muskulatur.

Methodik und Vorbemerkungen zur Versuchsanordnung.

Die Untersuchungen wurden am isolierten überlebenden Meerschweinchendarm in der Versuchsanordnung von Magnus vorgenommen. Das mit Ringer gefüllte und mit Luft durchperlte Darmbad faßte 12 ccm. In den Fällen, wo am atropinisierten Darm gearbeitet wurde, wurde der Darm zu Versuchsbeginn je 10 Minuten unter Atropin gelassen, alsdann wurde nach jeder Versuchsdosis mit reiner Ringerlösung ausgewaschen und erneut die entsprechende Atropinmenge hinzugefügt. Die im Text und in der Tabelle angegebenen Zahlen beziehen sich auf die Konzentrationen im Bad.

Es handelte sich also um die einfachste Versuchsanordnung, die pharmakologische Wirkungsweise von Giften an glattmuskeligen Organen zu untersuchen. Dabei ist es üblich, aus dem antagonistischen Verhalten bestimmter Stoffe gewisse Folgerungen für ihren Angriffspunkt abzuleiten. Gegen die Überspitzung dieser Methode hatte sich zuerst Magnus [6] und im folgenden viele Autoren, besonders wohl Schilf [7], mit Recht gewandt.

Wenn die pharmakologischen Untersuchungen z. B. der Körper der sympaticotropen Reihe dazu führte, diesen Stoffen entsprechend ihren Reaktionen an dem Nervmuskelsubstrat einen Platz anzuweisen, der durch nichts anderes als durch die Reaktionsweise der im Verhalten benachbarten Stoffe bestimmt war, so mußte dieses Vorgehen zu einer im Tatsächlichen substratlosen „pharmakologischen Anatomie" führen. Nur ein morphologisch bekanntes und abgrenzbares Gewebe kann, sofern auch seine physiologische Reaktionsweise bekannt ist, dazu dienen, die pharmakologische Wirkung verschiedener Stoffe als für bestimmte Gewebe spezifisch zu kennzeichnen.

Einzig an den peripheren Ganglien des Sympathicusgrenzstranges waren diese Versuchsbedingungen erfüllt, und daher konnte der Angriffspunkt des Nikotins und ähnlich wirkender Stoffe genau festgelegt werden. Vielleicht treffen diese Voraussetzungen auch noch zu für die Typisierung des $BaCl_2$ und Papaverins als an der Muskulatur angreifende Substanzen. Aber bei den antagonistisch wirkenden Stoffen wie Atropin-Arecolin, Adrenalin-Ergotamin spricht man besser von para-

[6] Magnus: Pflügers Arch. **123**, 99 (1908). — [7] Schilf: „Das autonome Nervensystem". Leipzig, Verlag Thieme, 1926.

sympathicus- und sympathicusähnlich wirkenden Giften, da eine Trennung von Angriffspunkt und Erfolgsorgan bei den in Frage kommenden Versuchsobjekten in diesem Falle nicht möglich ist. Immerhin können aber diese Stoffe innerhalb ihres bekannten Wirkungsbereichs im antagonistischen Versuch zur Systembestimmung anderer Substanzen verwandt werden.

Ein derartiges indirektes Untersuchungsverfahren erfordert aber eine genaue Berücksichtigung quantitativer Dosierungsbedingungen. Nur unter dieser Voraussetzung kann die Gefahr vermieden werden, Affinitäten, die selber nur Ausdruck quantitativer Beziehungen sind, qualitativ falsch zu deuten.

Auch dann ist die Verwendungsmöglichkeit dieser Methodik noch eine beschränkte, wenn man die mit ihr gefundenen Ergebnisse nur für sich allein betrachtet; erst der Vergleich mit Reaktionen der gleichen Stoffe an anderen Organen von einfacherer geweblicher Zusammensetzung und daher leichter zu erfassendem Reaktionsmechanismus kann oft erst den letzten Anhaltspunkt zur Deutung der erhaltenen Befunde geben und rückschließend auch im antagonistischen Versuch eine Angriffspunktbestimmung ermöglichen.

Die strenge Formulierung Schilfs[7], daß es nicht angängig sei, auf pharmakologische Tatsachen physiologische Feststellungen zu gründen, kann in dieser Form heute nicht mehr zutreffen, da es sich gezeigt hatte, daß wahrscheinlich beide Stoffe, welche im pharmakologischen Experiment zur Kennzeichnung der zwei Glieder des autonomen Nervensystems benutzt wurden, bei der physiologischen Erregung dieses Systems als spezifische Reizüberträger dienen.

Versuchsergebnisse.

Bei der Schilderung der Versuchsergebnisse ist im Text der besseren Übersichtlichkeit wegen von einer zahlenmäßigen Angabe der vielfach variierten Dosierungsverhältnisse möglichst abgesehen worden. Die quantitativen Wirkungsbedingungen sind in Form einiger Tabellen eingefügt.

A. Über die Reaktion des Nikotins.

a) Grundversuch.

Zunächst sei der Verlauf eines Versuches wiedergegeben, dessen Schema mit geringen Abweichungen auch für die übrigen Versuche gilt und der gleichzeitig die „Gewöhnung" des Darmes an das Nikotin demonstriert.

Zuerst wurde durch wiederholte Bariumchloridzugaben (wenn nicht besonders erwähnt, wurde nach jeder Giftzuführung auf der Höhe der Kontraktion ausgewaschen) die Reaktionsempfindlichkeit des Darmes gegen eine Bariumchloridkonzentration von 1:12000 festgestellt. Wenn eine gleichbleibende Amplitudengröße erreicht war, wurde Nikotin zugeführt. Bei einer Konzentration von 1 : 1,2 Millionen Nicotin tartaricum sprach der Darm mit einer schnell abklingenden Konzentration an. Wurde

nun ohne Auswaschen die gleiche Nikotindosis erneut hinzugegeben, so trat keine Wirkung mehr ein. Wurde aber anstatt der Nikotindosis Bariumchlorid hinzugeführt, so war der motorische Effekt der gleiche wie vor der Nikotinbehandlung. Nach dem Auswaschen ließ es sich zeigen, daß das Bariumchlorid unverändert wirksam war, die entsprechende Nikotindosis aber in Abhängigkeit von dem zeitlichen Abstand nur einen abgeschwächten Effekt besaß oder auch ganz wirkungslos war.

b) Über die Wirkung des Nikotins auf die Bariumchlorid- und Arecolinreaktion.

Durch eine Erhöhung der oben genannten Nikotinkonzentration konnte auch eine Hemmung bis Aufhebung der Bariumchloridwirkung herbeigeführt werden. Die Stärke und Dauer dieser nach dem Auswaschen verbleibenden Hemmung war von der Nikotinkonzentration abhängig. Ihre Dauer ging zeitlich der Nikotineigenhemmung parallel. Überhaupt konnte durch Verringerung der Bariumchloriddosis bis zur Schwellenkonzentration bei jeder motorisch noch wirksamen Nikotindosis eine Hemmung der Bariumchloridwirkung nachgewiesen werden (vgl. Tab. 1). Die „Gewöhnung" des Darmes an Nikotin war also nur eine scheinbare, unter bestimmten Dosierungsbedingungen reproduzierbare Erscheinung.

Mit dem gleichen Ergebnis ließen sich die Versuche mit Arecolin an Stelle des Bariumchlorids durchführen, wenn die Arecolinkonzentrationen dem motorischen Effekt der betreffenden Bariumchloridmengen äquivalent waren. Eine Hemmung der Arecolinwirkung trat also nur bei den Nikotinkonzentrationen auf, die auch auf die entsprechenden Bariumchloriddosen hemmend gewirkt hatten. Ich konnte daher im Gegensatz zu den Befunden Rydins[2] keine Hemmung der vagotropen Endorgane durch das Nikotin feststellen. Wohl betont Rydin, daß er Bariumchlorid noch unverändert wirksam gefunden hatte, trotzdem der Arecolineffekt durch das Nikotin stark gedämpft gewesen war. Leider macht er aber keine Angaben über Dosierungsbedingungen, und gerade diese sind in diesem Falle von entscheidender Bedeutung. Denn schon eine Erhöhung der Bariumchloridkonzentration um 50% vermochte die durch Nikotin hervorgerufene Hemmung zu durchbrechen (vgl. Tabelle 1). Das Gleiche gilt auch von dem Arecolin.

Die geschilderten Befunden sprechen dafür, daß die Nikotingewöhnung des Darmes durch eine der Erregung folgenden relativen Hemmung der glatten Muskulatur zustande kommt. Bei nicht genügender Beachtung der quantitativen Versuchsbedingungen kann aber auch der Eindruck eines Vagushemmungseffektes entstehen. Daß die „Gewöhnung" nicht durch eine Einwirkung des Nikotins auf den Auerbachschen Plexus zustande kommen kann, geht schon aus diesen Versuchen hervor. Denn eine Ausschaltung des Auerbachschen Plexus

durch das Nikotin kann nicht eine Erregbarkeitshemmung der glatten Muskulatur bedingen. Dagegen wäre es möglich, daß das Nikotin sowohl auf den Auerbachschen Plexus wie auf die glatte Muskulatur einwirkt, wobei die Nikotinwirkung auf den Plexus durch die Hemmung des Erfolgorgans verdeckt sein könnte. Die im folgenden angeführten Versuchsergebnisse sprechen aber alle für einen rein muskulären Angriffspunkt des Nikotins.

Tabelle 1. Hemmung der $BaCl_2$-Wirkung durch Nikotin.

Grenzdosis für motorische Erregung ist für Nikotin 1 : 1200000, für $BaCl_2$ 1 : 20000.

0 bedeutet Ausbleiben der Erregung, (+) bedeutet Verminderung der motorischen Wirkung, + bedeutet volle motorische Wirkung.

Nikotin	$BaCl_2$-Konzentrationen	
	1/12000	1/20000
1/1 200 000	+	
1/600 000	+	0
1/300 000	(+)	
1/250 000	0	

c) Über die Wirkung des Atropins auf die Nikotindarmreaktion.

Versuche von Kress[8] hatten gezeigt, daß Atropin ohne Einfluß auf die motorische Wirkung des Nikotins ist. Nach meinen Versuchen trifft dies aber nur für die relativ niedrigen Atropinkonzentrationen zu, wie sie zur Dämpfung eines Vaguseffekts ausreichen. Höhere Atropinkonzentrationen von etwa 1 : 120000 an heben dagegen die motorische Nikotinwirkung vollkommen auf (vgl. Tabelle 2) und bei noch stärkeren Atropinkonzentrationen von etwa 1 : 60000 an verursacht das Nikotin auch nicht mehr eine Hemmung der Muskelerregbarkeit (vgl. Tabelle 3). Nikotin ist also nach stärkeren Atropinkonzentrationen am Darm vollkommen wirkungslos, während die Bariumchloridwirkung durch das Atropin nicht beeinflußt wird.

Tabelle 2. Hemmung der motorischen Nikotinwirkung durch Atropin.

Atropin	Nikotin	
	1/300000	1/150000
1/120 000	+	
1/60 000	0	+
1/30 000	0	
1/12 000	0	0

Tabelle 3. Verhütung der hemmenden Nikotinwirkung für die folgende Bariumreaktion unter Atropin.

(Nikotin und Atropin gleichzeitig einwirkend, $BaCl_2$-Konzentration immer 1/12000. Die Zeichen beziehen sich auf den Bariumeffekt.)

Nikotin-Vorbehandlung	Gleichzeitige Atropinkonzentration			
	1/120000	1/60000	1/30000	1/12000
1/150 000		0	0	+
1/300 000	0	+	+	+

[8] Kress: Pflügers Arch. **109**, 608 (1905).

Allerdings ist nach Atropin zunächst auch eine Erregbarkeitshemmung der glatten Muskulatur festzustellen, die aber nach längerem Kontakt des Darmstückes mit Atropin zurückgeht. Diese Erscheinung tritt schon bei bedeutend niedrigeren Konzentrationen auf. Nach Atropin 1 : 60000 war zunächst der Darm sogar gegen höhere Bariumchloridkonzentrationen unempfindlich, während er 10 Minuten später auf die Schwellenkonzentration des Bariumchlorids wie ein normales Darmstück ansprach. Auch die Spontanbewegungen des Darmes, die zuerst verschwunden waren, traten nach 10 Minuten wieder auf. Aufgehoben blieb dagegen die ganze Nikotinwirkung.

Es kann sich bei dieser Hemmung nicht um eine Einwirkung des Atropins auf den Auerbachschen Plexus gehandelt haben, da hierfür die Konzentrationen zu niedrig waren. Denn nach den Versuchen Feldbergs [9] am isoliert durchströmten Ganglion cervicale superius der Katze bedarf es etwa 500 γ Atropin, um eine Lähmung der Gangliennervenzellen zu verursachen. Auch Magnus hatte erst mit relativ hohen Atropinkonzentrationen eine Wirkung auf den Auerbachschen Plexus erzielen können. Daß die Atropinwirkung auch andererseits nicht als eine reine Lähmung der Muskulatur gedeutet werden kann, ist oben gezeigt worden.

B. Pharmakologische Untersuchungen der Arecolinreaktion am Darm.

Es lag mir daran, mit einer anderen Substanz, die auf das isolierte Ganglion cervicale superius der Katze ähnlich wie das Nikotin wirkte, am Darm aber einen ganz anderen Effekt zu haben schien, die gleichen Versuche durchzuführen. Hierfür war das Arecolin geeigneter als das Acetycholin, da die leichte Zerstörbarkeit des letzteren die Deutung der Versuche hätte erschweren können.

a) Wirkung des Arecolins auf die Bariumchlorid- und die Nikotindarmreaktionen.

Überraschenderweise vermochte Arecolin in einer Konzentration von 1 : 200000 an die Wirkung des Bariumchlorids zu hemmen bzw. zu unterdrücken (vgl. Tabelle 4). Dabei blieb aber das Arecolin selber im Gegensatz zum Nikotin unverändert wirksam. Bei diesen relativ hohen Arecolinkonzentrationen war allerdings die motorische Wirkung des Bariumchlorids nicht der des Arecolins gleich gewesen. Auch die Arecolinwirkung wurde aufgehoben, wenn man zu den Testinjektionen niedrigere, der $BaCl_2$-Wirkung entsprechende Arecolinkonzentrationen anwandte.

Tabelle 4. Hemmende Wirkung des Arecolins auf die $BaCl_2$-Kontraktion ohne und in Gegenwart von Atropin.

Arecolin	$BaCl_2$ 1 12000	
	ohne Atropin	nach Atropin 1/300000
1/300 000	+	
1/120 000	(+)	+
1/60 000	0	
1 3 000	0	+
1/1 200		+
2 × Arecolin 1/1200, zwischendurch ausgewaschen		0

Die Zeichen beziehen sich auf den Bariumeffekt.

Ebenfalls wurde die motorische Nikotinwirkung durch die hohen

[9] Feldberg u. Vartiainen: J. Physiol. (Brit.) **83**, 103 (1935).

Arecolindosen gehemmt bis unterdrückt, und zwar in dem gleichen Maße, wie die Bariumchloridwirkung ausgelöscht wurde.

Das Arecolin vermochte also neben seiner starken vagotropen Wirkung wie das Nikotin in Konzentrationen, die für eine unspezifische Vergiftung des Darmes noch nicht in Frage kommen konnten, die Erregbarkeit der glatten Muskulatur zu hemmen. Dabei war die vagotrope Wirkung der hierzu notwendigen Konzentrationen so stark, daß sie für die Erregbarkeitshemmung der glatten Muskulatur stets überschwellig waren. Es konnte daher eine der scheinbaren Nikotineigenhemmung entsprechende „Gewöhnung" bei gleichen Konzentrationen nicht in Erscheinung treten.

b) Wirkung des Atropins auf die Arecolindarmreaktion.

Bekanntlich kann die vagotrope Wirkung des Arecolins schon durch relativ kleine Atropindosen aufgehoben werden. Ich hatte daher gehofft, auf diese Weise die muskuläre Wirkung des Arecolins unabhängig von seiner vagotropen Wirkung zur Darstellung bringen zu können.

Aber da auch die Arecolinhemmung durch das Atropin nur relativ zu verstehen ist, machte eine Vergrößerung der Arecolindosen auch eine Steigerung der Atropinkonzentrationen notwendig. So vermochte z. B. eine Atropinkonzentration von 1 : 12000 noch nicht die motorische Wirkung von Arecolin 1 : 3000 zu unterdrücken. Daß es sich bei dieser Arecolinwirkung noch um einen Vagusreizeffekt handelte, zeigte eine weitere Erhöhung der Atropinkonzentration, durch die wohl die Arecolinwirkung abgeschwächt wurde, die Bariumchloridwirkung aber unverändert blieb.

Andererseits zeigte es sich, daß die Muskelerregbarkeitshemmung nach Arecolin durch Atropin ebenso aufgehoben wurde wie die nach Nikotin (vgl. Tabelle 4). Diese beiden Tatsachen erklären es, daß Arecolinkonzentrationen, die eine bariumchloridhemmende Wirkung besaßen, zur Unterdrückung ihres vagotropen motorischen Effekts Atropinmengen benötigten, die ihrerseits den Hemmungseffekt des Arecolins aufhoben. So beseitigte schon Atropin in einer Konzentration von 1 : 300000 vollkommen den Hemmungseffekt von Arecolin 1 : 120000, während der motorische Effekt des Arecolins erhalten blieb (vgl. Tabelle 5). Durch weitere Steigerung der Atropinkonzentrationen konnte sogar die sonst zur vollkommenen Lähmung führende Wirkung hoher Arecolindosen vollkommen aufgehoben werden.

Tabelle 5.

Hemmung der motorischen Arecolinwirkung durch Atropin.

Atropin	Arecolinkonzentrationen		
	1/60000	1/12000	1/3000
1/150000	0	+	+
1/75000		+	
1/20000		+	
1/12000			+
1/6000			+

Es war aus diesen Gründen nicht möglich, direkt nachzuweisen, daß das Arecolin neben seiner vagotrop bedingten motorischen Wirkung auch einen direkt muskulär ausgelösten motorischen Ef-

fekt wie das Nikotin besaß. Direkt nachweisen ließ sich nur die muskelerregbarkeitshemmende Wirkung, die in ihrem Verhalten vollkommen der Nikotinwirkung glich.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Das Gemeinsame der untersuchten Nikotin- und Arecolinreaktionen am Darm war ihre die Muskelerregbarkeit hemmende Eigenschaft. Die wirksamen Konzentrationen lagen dabei noch unter denen des als spezifisch muskulär lähmend angesehenen Papaverins.

Diese Erregbarkeitshemmung war abhängig von den Konzentrationen sowohl der hemmenden wie der erregenden Substanz. Daher war es nicht möglich, durch Atropinisierung des Darmes den vagotropen Effekt des Arecolins in dem Maße auszuschalten, daß die nikotinähnliche, muskulär motorische Wirkung sich hätte nachweisen lassen. Denn die Affinität des Arecolins zu den vagotropen Endorganen erwies sich als bedeutend größer als die zu den muskulären Elementen und trat daher bei viel niedrigen Konzentrationen in Erscheinung. Die die Muskelerregbarkeitshemmung herbeiführenden höheren Arecolinkonzentrationen hatten aber noch eine deutliche vagotrope Wirkung bei Atropinmengen, die selbst schon den muskulären Effekt des Arecolins aufhoben. Daher kann sich die Annahme, daß das Arecolin auch einen gleichen muskulär motorischen Effekt wie das Nikotin besitzt, nur auf einen reinen Analogieschluß stützen, der sich das eine Mal aus dem gleichen Verhalten seiner muskelerregbarkeitshemmenden Wirkung dem Atropin gegenüber ergibt, das andere Mal aus der dem Nikotin ähnlichen Wirkung des Arecolins auf die Gangliennervenzellen zu entnehmen ist. Festzustellen ist hierbei aber, daß die Muskelerregbarkeitshemmung nach Arecolin durch sehr viel kleinere Dosen Atropin verhindert werden kann als die Hemmung nach Nikotin.

Die Eigentümlichkeit der muskulär motorischen Darmreaktion, durch welche sie sich von den Reaktionen der anderen Muskelgifte wie Bariumchlorid und Histamin unterscheidet, kommt dagegen ganz rein bei dem nicht vagotrop wirkenden Nikotin zum Ausdruck.

Es findet sich dieser Übergang von Erregung zur Lähmung bei allen bisher bekannten Nikotinreaktionen. Am reinsten ist der für die Wirkung auf Nervenzellen spezifische Reaktionsablauf nach Nikotins bei der isolierten Durchströmung des Ganglion cervicale superius der Katze zu erhalten, da hier rezeptives und Erfolgsorgan räumlich getrennt sind. Feldberg [9] hatte an diesem Präparat sicher gezeigt, daß es sich bei der Nikotinwirkung um eine Erregung der Gangliennervenzellen selbst, und nicht um eine Wirkung auf die Nervenzellfortsätze, also auf die präganglionären Nervenendigungen handelte.

Aber auch die quergestreifte Muskulatur wird durch Nikotin in der gleichen Weise wie die Nervenzelle beeinflußt. Der Erregung folgt eine

für längere oder kürzere Zeit anhaltende Hemmung der Nikotinerregbarkeit [10]. Dieser Reaktionsmechanismus kann aber ähnlich dem an dem Ganglion nicht von jedem beliebigen Ort der Muskelzelle ausgelöst werden, sondern ist auf die „rezeptive Substanz" oder das neuromuskuläre Zwischenstück beschränkt, also auf den Gewebsteil, welcher für die Aufnahme von über den Nerven verlaufenden Reize bestimmt ist.

Bei der quergestreiften Muskulatur liegt wohl eine organmäßige Trennung von rezeptiven und Erfolgsorgan nicht mehr vor. Dagegen hat es hier die Gewebsstruktur ermöglicht, innerhalb der Zelle einen Gewebsanteil histologisch wie funktionell als rezeptives System für den physiologischen Nervenreiz zu kennzeichnen. Es finden sich hier physiologisch die gleichen funktionellen Bedingungen vor, wie bei dem Ganglion und auch hier wirkt das Nikotin in gleicher Weise auf das morphologisch und funktionell als rezeptiv gekennzeichnetes System ein.

An der glatten Muskulatur schließlich ist nicht mehr eine im Experiment faßbare funktionelle Trennung zwischen rezeptiven und Erfolgssystem durchführbar. Morphologisch ist aber im histologischen Bild nach den Untersuchungen Boeckes [11] im Innervationsbereich der einzelnen Muskelzelle eine weitgehende Ähnlichkeit zu der Gewebsstruktur des neuromuskulären Zwischenstücks der quergestreiften Muskulatur festzustellen. Auch an der glatten Muskulatur war nun das Wirkungsbild des Nikotins das gleiche wie an der quergestreiften Muskulatur und der Gangliennervenzelle.

Es ist nicht nur die glatte Muskulatur des Darmes, die auf diese Weise reagiert; auch an isoliert durchströmten Gefäßen tritt dieses als Gewöhnung imponierende Reaktionsbild auf [12]. Nur ist an den Gefäßen meines Wissens noch nicht quantitativ untersucht worden, wie weit diese Reaktionshemmung sich auch auf andere Substanzen mit motorischer Wirkung erstreckt.

Die anderen rein muskulär wirksamen Gifte wie Bariumchlorid und Histamin sind ohne Einfluß auf die Muskelerregbarkeit. Das gleiche gilt auch für das echt tachyphylaktisch wirkende Tonephin. Alle drei genannten Stoffe wirken bezeichnenderweise auch nicht auf das isoliert durchströmte Ganglion cervicale superius der Katze, vermögen also nicht die Gangliennervenzellen zu erregen [13 u. 9].

Die Annahme, daß die Eigenart der Nikotindarmreaktion in eine Linie zu stellen ist mit der Wirkung des Nikotins auf die Gangliennervenzellen und auf die quergestreifte Muskulatur, und daß das einheitliche Reaktionsbild an diesen Geweben durch die Affinität des Nikotins zu den den

[10] Langley: J. Physiol. (Brit.) **36**, 847 (1907); Bacq u. Brown: Ebenda **89**, 45 (1937); Riesser u. Neuschloss: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **91**, 341 (1921); **92**, 256 (1922). — [11] Boecke: Z. mikrosk.-anat. Forsch. **33**, 233 (1933). — [12] Handovsky, H., u. E. P. Pick: Pflügers Arch. **71**, 89 (1913). — [13] Eigene, noch nicht veröffentlichte Versuche.

physiologischen Nervenreiz aufnehmenden Systemen liegt, läßt sich für die Darmmuskulatur nur durch weitere Analogieschlüsse stützen. Das Besondere der Nikotinreaktion an der Darmmuskulatur liegt dann in der Tatsache, daß die nach einer Erregung auftretende Hemmung der rezeptiven Substanz zu einer Hemmung der gesamten Muskelzelle führte und weiterhin darin, daß die gesamte Nikotinwirkung durch höhere Atropinkonzentrationen aufgehoben werden konnte.

Eine ähnliche Aufhebung der motorischen Nikotinwirkung durch Atropin findet sich nach den Untersuchungen Langleys auch an der quergestreiften Muskulatur. Dieser Atropineffekt verläuft hier über das neuromuskuläre Zwischenstück. Auch Riesser und Neuschloss[10] wiesen nach, daß nach großen Dosen Atropin das neuromuskuläre Zwischenstück sowohl gegen Nervenreizung wie auch Azetylcholin und Nikotin unempfindlich wurde, ohne daß eine Veränderung der direkten Erregbarkeit auftrat. Daß Atropin in größeren Dosen auch auf die Nervenzellen des Ganglion cervicale superius der Katze lähmend wirkte, hatte Feldberg[9] nachweisen können.

Es läßt sich also auch für das Verhältnis Atropin-Nikotin an allen drei Organen ein gleiches Verhalten feststellen, welches sich in einer Aufhebung des motorischen Nikotineffekts äußert und gekennzeichnet ist durch Atropinkonzentrationen, die weit über der zur Hemmung der parasympathischen Endorgane benötigten liegen. Auch gegenüber so ausgesprochen parasympathisch wirkenden Stoffen wie Azetylcholin * bedarf es an diesen Organen der gleichen hohen Atropinkonzentrationen.

Die Belegung der anderen Eigentümlichkeit der Nikotindarmreaktion mit analogen Reaktionen des Nikotins an anderen Organen läßt sich nicht mit Nikotin durchführen. Meistens ist zu Experimenten an der quergestreiften Muskulatur in letzter Zeit Azetylcholin verwandt worden. Da aber diese Substanz die gleiche Wirkungsweise an der denervierten quergestreiften Muskulatur wie das Nikotin hat und ihre Reaktion daher auch als „nikotinähnlich" bezeichnet wird, kann man die mit Azetylcholin erhaltenen Ergebnisse mit Vorbehalt auch für Nikotin in Anspruch nehmen.

Überdies ist nach den neuen Untersuchungen von Bacq und Brown[10] die Nikotinreaktion auch an dem normal innervierten Säugetiermuskel der Azetylcholinwirkung ähnlich. Zum Unterschied von Acetylcholin ist aber die Empfindlichkeit der normal innervierten quergestreiften Muskulatur dem Nikotin gegenüber 50mal geringer als die des Ganglions.

In Versuchen mit Azetylcholin an der denervierten quergestreiften Muskulatur in situ hatte Brown[14] gezeigt, daß die Muskelkontraktion von einer Hemmung der direkten elektrischen Erregbarkeit gefolgt war. Da die Azetylcholinkontraktion durch eine nikotinähnliche Erregung des neuromuskulären Zwischenstücks zustande kommt, hatte die Hemmung dieses Gewebsteiles also zu einer Erregungshemmung der gesamten Zelle

* Das Verhalten von Azetylcholin ist am Darm nicht untersucht worden.

[14] Brown: J. Physiol. (Brit.) **82**, 438 (1934).

geführt. 100 γ Atropin vermochte nicht nur die primäre Erregungskontraktion zu unterdrücken, sondern vermochten auch die nach Azetylcholin auftretende Hemmung der direkten elektrischen Erregbarkeit zu verhindern. Wir haben es hier also mit einer der Nikotindarmreaktion analogen Erscheinung zu tun. Da das Azetylcholin auf die Ganglienervenzellen und auf die quergestreifte Muskulatur in gleicher Weise einwirkt wie das Nikotin und diese Reaktionen daher als „nikotinähnlich" bezeichnet werden, ist es wohl möglich, die mit Azetylcholin erhaltenen Ergebnisse mit Vorbehalt auch für das Nikotin in Anspruch zu nehmen.

Wenn das Atropin in höheren Konzentrationen sowohl die Ganglienervenzellen lähmt, wie auch das neuromuskuläre Zwischenstück der quergestreiften Muskulatur gegen Azetylcholin, Nikotin und Nervenreize unempfindlich macht, wenn ferner Azetylcholin die direkte elektrische Erregbarkeit der quergestreiften Muskulatur hemmt, und diese Hemmung durch Atropin aufgehoben werden kann, so stimmen diese an anderen Organen mit wohldefiniertem Angriffspunkt erhobenen Befunde weitgehend mit der Eigentümlichkeit der Nikotindarmreaktion überein. Es erscheint daher die Annahme berechtigt, daß die Art der Nikotinreaktion am isolierten Darmstück nur den Ausdruck der allgemeinen Affinität des Nikotins zu den rezeptiven Systemen der Zellen darstellt und daß hierdurch unabhängig von der Gewebsart das spezifische Wirkungsbild des Nikotins bedingt ist. Ob außer dem Arecolin auch noch Azetylcholin eine ähnliche Wirkung an der Darmmuskulatur hervorrufen kann, bleibt noch zu untersuchen.

Zusammenfassung.

1. Die Wirkung des Nikotins auf den isolierten Meerschweinchendarm ist rein muskulär bedingt. Die Gewöhnung des Darmes an Nikotin ist nur eine scheinbare, hervorgerufen durch eine Hemmung der Muskelerregbarkeit. Eine spezifisch vagushemmende Wirkung kommt dem Nikotin am isolierten Meerschweinchendarm nicht zu.

2. Arecolin besitzt neben seiner starken vagotropen Wirkung auch eine erregbarkeitshemmende Wirkung auf die glatte Muskulatur des Darmes, welche der Nikotinwirkung gleicht. Infolge der nicht unterdrückbaren vagotropen Wirkung des Arecolins läßt sich ein rein muskulär bedingter motorischer Effekt beim Arecolin nicht direkt nachweisen.

3. Atropin in höheren Konzentrationen hebt die motorische Nikotinwirkung vollkommen auf; ebenso wird auch die muskelerregbarkeitshemmende Wirkung des Arecolins beseitigt.

4. Es ist anzunehmen, daß die Nikotindarmreaktion ein unspezifischer Ausdruck der Nikotinaffinität zu den rezeptiven Systemen der Gewebe und Zellen darstellt, die im Ganglion von den Ganglienervenzellen und in der quergestreiften Muskulatur von dem neuromuskulären Zwischenstück dargestellt werden. In der glatten Muskelzelle müßte der Angriffspunkt in dem Innervationsbereich der Kernregion zu suchen sein.

Aus der Chemischen Anstalt* und dem Pharmakologischen Institut der Universität Basel. (Vorst.: Prof. Dr. H. Staub.)

Darstellung und Pharmakologie des Isobutyryl-3-Oxyphenyltrimethylammoniummethylsulfats und einiger verwandter Verbindungen**.

Von

Hubert Bloch.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. Juni 1939.)

Läßt man als Arbeitshypothese die Annahme gelten, daß häufig eine pharmakologische Wirkung mit einer spezifischen Adsorption parallel geht, so wird man zu der Frage geführt, welche Merkmale einer Molekel bei solchen Adsorptionsvorgängen maßgebend sind. Neben Löslichkeit und Azidität sind es sicher bestimmte Strukturen, die über die Adsorbierbarkeit an einer gegebenen Grenzfläche entscheiden. Wenn man nach geeigneten chemischen Modellen für solche spezifischen Adsorptionsvorgänge sucht, so interessiert z. B. der Vorgang des Kristallwachstums in Lösung. Die letzten Jahre haben eine Fülle von Beobachtungen über die Kinetik des Kristallwachstums gebracht, die alle zu der Annahme führen, daß die eigentlichen Vorstufen des Kristallwachstums in Adsorptionserscheinungen gesehen werden müssen.

Es ist nun bekannt, daß ein Kristall aus einem Stoff A nicht nur die gelösten Molekeln a spezifisch adsorbiert und dann in sein Ionen- oder Molekülgitter einlagert, sondern daß die Grenzfläche dieses Kristalls auch für völlig anders gebaute Stoffe B als spezifisches Adsorbens wirkt und nun entweder diese Molekeln b anlagert, womit der Kristall mit einem neuen Material, aber isomorph, weiterwächst; oder aber die Kristallfläche wirkt als Kristallkeim für die Molekeln b, und es erfolgt eine orientierte Abscheidung des Materials in einer fremden Kristallform (B) auf der Unterlage (A). In diesem Falle sind aber die Koordinaten der neuen Kristallform (B) orientiert zu den Koordinaten des Kristalls (A).

Im ersten Falle des isomorphen Weiterwachsens des Kristalls liegt zwischen den Molekeln a und b eine dreidimensionale Strukturverwandtschaft vor, d. h. die Molekeln a und b haben das gleiche elektrische Feld und annähernd die gleiche Größe. Die klassischen Beispiele hierfür sind, nach

---

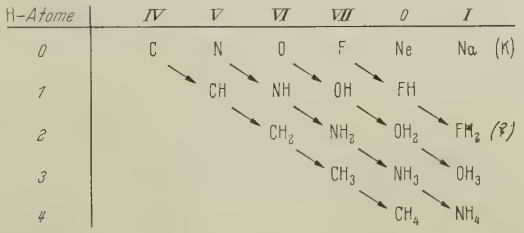
* Der chemische Teil dieser Arbeit entstand unter der Leitung von Prof. Dr. H. Erlenmeyer, dem ich auch an dieser Stelle für seine anregende Hilfe danke. —
** Als Dissertation der medizinischen Fakultät Basel eingereicht und genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. H. Staub.

Mitscherlich, die Isomorphie zwischen den Verbindungen KH_2PO_4 und KH_2AsO_4, oder zwischen den Alaunen

$$KAl(SO_4)_2 \cdot 12\,H_2O,$$
$$KCr(SO_4)_2 \cdot 12\,H_2O,$$
$$KFe^{\cdots}(SO_4)_2 \cdot 12\,H_2O.$$

Isomorphie tritt nun erfahrungsgemäß besonders häufig bei isosteren Verbindungen auf. Als einfaches Beispiel sei hier die Isomorphie zwischen den Verbindungen des Kaliums und denen des Ammoniums erwähnt: Die Gruppe NH_4 ist isoster mit K bzw. Na.

Aus dem Hydridverschiebungssatz von H. G. Grimm (1) läßt sich eine Reihe anderer isosterer Molekeln und Gruppen ablesen:



Wichtig ist dabei zu bemerken, daß Isosterie wohl besonders häufig zur Isomorphie führt, daß aber keine gesetzmäßigen Beziehungen zwischen diesen beiden Eigenschaften bestehen.

Auf Grund dieser Vorstellungen kann man vermuten, daß eine gewisse Beziehung besteht zwischen dem Differenzierungsvermögen der Kristalle und dem des Organismus, und es erscheint deshalb interessant, vergleichende pharmakologische Untersuchungen mit isomorphen bzw. isosteren Verbindungen auszuführen.

Als isoster müssen nach dem Hydridverschiebungssatz die Gruppen $-N=$ und $-CH=$ gelten. Entsprechend wurde auch Isomorphie festgestellt, z. B. zwischen Dimethylaminoantipyrin (Pyramidon) und Isopropylantipyrin, enthalten im Saridon (Erlenmeyer und Willi (2)), wo sich die Gruppen

$$\begin{matrix} H_3C \\ H_3C \end{matrix}\!\!>\!N- \quad \text{und} \quad \begin{matrix} H_3C \\ H_3C \end{matrix}\!\!>\!CH-$$

isomorph vertreten. Isoster sind auch im Acetylcholin und im Carbaminoylcholin (Doryl) die Gruppen

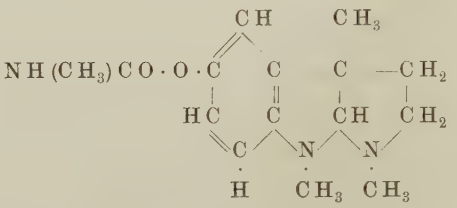
$$H_3C \cdot CO- \quad \text{und} \quad H_2N \cdot CO-,$$

wobei wir wissen, daß von der Acetylgruppe (beim isosteren Doryl von der $NH_2 \cdot CO$-Gruppe) die Stärke der pharmakologischen Wirkung abhängt, da beide Gruppen die Wirkungsstärke des einfachen Cholins um das Tausendfache und mehr steigern.

Bei einer anderen Verbindungsreihe mit der Gruppe

$$\begin{matrix} R \\ R \end{matrix}\!>\!N\cdot CO-,$$

den eserinähnlich wirkenden Carbaminsäureestern von Aminophenolderivaten, ist es nach den vorliegenden Angaben bedeutend schwieriger, die Stärke der Wirkung auf die Anwesenheit einer bestimmten chemischen Gruppe zurückzuführen. Wohl liegen Anhaltspunkte vor, daß speziell die Carbaminsäure bzw. die Urethangruppe für die Wirksamkeit dieser Stoffe und auch die des Physostigmins (I) von ausschlaggebender Bedeutung seien.

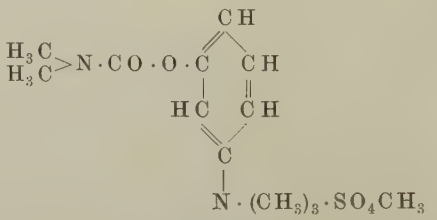


(I)

Physostigmin (Eserin), nach [Stedman und Barger (3)].

So schreibt Barger (4): „The fact that the physiological activity of physostigmine disappears on hydrolysis suggested to Stedman (5) that this activity was due to the urethane grouping. This hypothesis was soon confirmed by the synthesis of the urethanes of simpler phenolic bases, which were found to have a physiological activity quite simular to that of physostigmine itself."

Eine solche einfachere Phenolbase mit einer physiologischen Wirkung, die der des Physostigmins sehr ähnlich ist, stellt der im Handel befindliche Carbaminsäureester des 3-Oxyphenyltrimethylammoniummethylsulfats (6), das Prostigmin (II), dar.



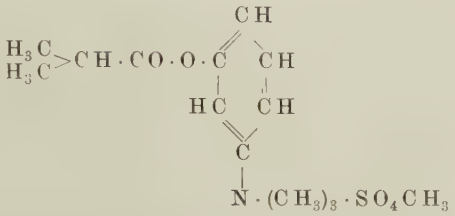
(II)

Prostigmin.

Man kann jedoch der Arbeit von Aeschlimann und Reinert (7) entnehmen, daß schon das durch Verseifung entstandene 3-Oxyphenyltrimethylammoniumjodid, das dem Prostigmin zugrunde liegt, physiologisch stark wirksam ist, obschon hier kein Urethan vorliegt.

In Anlehnung an die einleitend angeführte Arbeitshypothese untersuchten wir nun die pharmakologische Wirkung des zum Prostigmin isosteren Esters, der formal durch Ersatz des $-N=$ in der Carbaminsäure-

gruppe durch ein -CH— entsteht. Dieses „isostere Prostigmin" hat also die Formel (III):



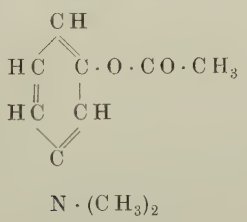
(III)

Isobutyrylester des 3-Oxyphenyltrimethylammoniummethylsulfats (im folgenden mit Bm bezeichnet).

Dieser Körper wurde dargestellt, und ebenso wurde, um Vergleichsmaterial zu gewinnen, die Synthese des Jodids der gleichen Verbindung und diejenige des Acetylesters des 3-Oxyphenyltrimethylammoniummethylsulfats und -jodids durchgeführt. In der chemischen Literatur liegen über diese Verbindungen noch keine Angaben vor. Die Acetylverbindung wird nur in der oben erwähnten Arbeit von Aeschlimann und Reinert (7) erwähnt, ohne daß über ihre Darstellung etwas gesagt wird.

Herstellung der Präparate.

Acet-3-Dimethylaminophenol (IV).



(IV)

Diese Verbindung läßt sich durch Vereinigen von 3-Dimethylaminophenol mit Essigsäureanhydrid darstellen [v. Goldberger (8), v. Meyenburg (9)]. Wir wählten aus Analogiegründen zu unseren späteren Versuchen an Stelle von Essigsäureanhydrid gereinigtes Acetylchlorid. 15 g fein zerriebenes 3-Dimethylaminophenol werden in einem Gemisch von 35 ccm Benzol und 40 g Pyridin gelöst. Sowohl Benzol als Pyridin müssen mehrmals destilliert und getrocknet werden. Zu dieser Lösung gibt man in einem Rundkolben tropfenweise Acetylchlorid zu; sofort tritt unter starker Erwärmung eine lebhafte Reaktion ein, bei der Pyridinchlorhydrat als braunrot verfärbter Niederschlag ausfällt. Die Reaktion wird durch Kühlen mit einer Eis-Kochsalzmischung reguliert. Man läßt den erhaltenen Brei einige Zeit stehen, nutscht dann ab und arbeitet Filtrat und Niederschlag in gleicher Weise, aber getrennt auf. Der Niederschlag löst sich leicht in wenig Wasser. Man versetzt mit verdünnter und einigen Tropfen konzen-

trierter Salzsäure und trennt vom Benzol ab. Hierauf wird die salzsaure Lösung mit Soda alkalisch gemacht und mit Äther ausgezogen. Zur Entfernung des unumgesetzten Dimethylaminophenols wird einmal mit etwa 20 ccm 2-n-NaOH gut durchgewaschen und das noch vorhandene Pyridin durch Waschen mit Wasser entfernt. Der schwach rosa gefärbte Äther wird nun über Calciumchlorid und Natriumsulfat 12 Stunden getrocknet und abgedampft. Es verbleibt eine braune ölige Flüssigkeit. Diese wird im Vakuum destilliert. Nach einem farblosen Vorlauf geht bei 11 mm Hg und 110° das Acet-3-Dimethylaminophenol als gelbliches Öl über und erstarrt sofort zu strahlenförmigen Kristallen, die erst weiß sind, sich aber nach einiger Zeit an der Luft gelblich färben.

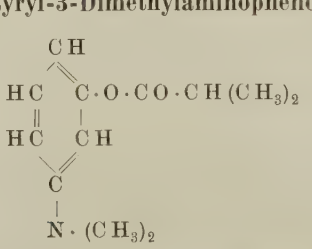
Schmelzpunkt: 36°.

Das zum Vergleich mit Acetanhydrid hergestellte Präparat hat einen Schmelzpunkt von 35,5°.

Siedepunkt: 268° (266°).

Ein Mischschmelzpunkt wurde gemacht.

Isobutyryl-3-Dimethylaminophenol (V),



(V)

wird in ganz analoger Weise hergestellt, indem an Stelle von Acetylchlorid mehrfach destilliertes Isobutyrylchlorid zugetropft wird. Das bei der Ätherverdampfung zurückbleibende Öl geht über bei 12 mm Hg und 130°. Es erstarrt nicht kristallin.

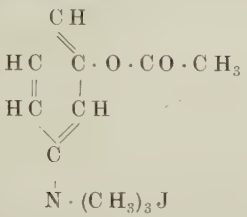
Analyse: 4,069; 4,077 mg Substanz gaben 3,200; 3,180 mg H_2O und 10,365; 11,367 mg CO_2.

Ber.: H 8,67%, C 69,46%.
Gef.: H 8,21%, C 69,56%.

Die Verbindung ist löslich in Wasser, Äthanol, Aceton, Xylol, Dioxan; unlöslich in Benzol, Ligroin, Diäthyläther, Essigäther. Aus Dioxan und Äther läßt sich das Präparat kristallin gewinnen. Es sind lange, weiße, sehr hygroskopische Nadeln vom Schmelzpunkt 151°.

Aus diesen tertiären Basen lassen sich nun die quartären gewinnen, indem man z. B. die Jodmethylate oder die Methylsulfate dieser Verbindungen herstellt. Als Beispiel führen wir hier die Darstellung der Jodmethylate an.

Acetylester des 3-Oxyphenyltrimethylammoniumjodids (VI).



(VI)

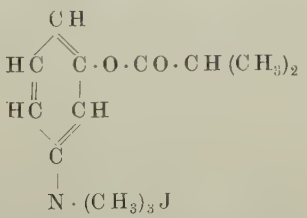
Man gibt in einem Rundkolben etwa molare Mengen von Acetyl-3-Dimethylaminophenol und von Jodmethyl in alkoholischer Lösung zusammen und läßt das Gemisch bei Zimmertemperatur stehen, nachdem man es auf dem Wasserbad kurze Zeit vorsichtig erhitzt hat. Nach einigen Stunden kristallisiert das Jodmethylat in langen gelben Nadeln aus, die durch zweimaliges Umkristallisieren aus absolutem Alkohol gereinigt werden. Die Kristalle sind jetzt weiß und beständig.

Schmelzpunkt: 174°.

Analyse: 4,600; 4,185 mg Substanz gaben 6,885; 6,270 mg CO_2 und 2,155; 1,975 mg H_2O.

$C_{11}H_{16}O_2NJ$. Ber.: C 41,25%, H 5,00%.
Gef.: C 40,86%, H 5,24%.

Isobutyrylester des 3-Oxyphenyltrimethylammoniumjodids (VIII).



(VII)

Diese Verbindung wird in ganz analoger Weise dargestellt und das Jodid in Form weißer, nadelförmiger Kristalle gewonnen.

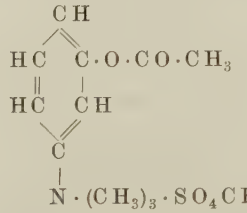
Schmelzpunkt: 167°.

Analyse: 3,830; 3,900 mg Substanz gaben 6,310; 6,435 mg CO_2 und 1,995; 2,005 mg H_2O.

$C_{13}H_{20}O_2NJ$. Ber.: C 44,82%, H 5,74%.
Gef.: C 44,93%, H 5,75%.

Die Methylsulfate der beiden tertiären Basen wurden durch Reaktion mit überschüssigem Dimethylsulfat, das durch Destillation frei

von Schwefelsäure gemacht worden war, nach leichtem Erhitzen auf dem Wasserbad gewonnen.



(VIII)

Acetylester des 3-Oxyphenyltrimethylammoniummethylsulfats (im folgenden mit Am bezeichnet).

Pharmakologische Prüfung der Präparate.

Wenn die eingangs erwähnte Annahme gelten soll, so müßte der Isobutyrylester des 3-Oxyphenyltrimethylammoniummethylsulfats (wir nennen ihn im folgenden Bm), obwohl kein Urethan, als isostere Verbindung des Prostigmins eine Wirksamkeit besitzen, die derjenigen des Prostigmins sehr ähnlich ist. Ferner müßte die eserinähnliche Wirkung von Bm deutlicher sein als die des Acetylesters des 3-Oxyphenyltrimethylammoniummethylsulfats (Am), dem die nach Barger (4) für die Wirkung maßgebende Urethangruppe bzw. in unserem Falle die ihr isostere Isobutyrylgruppe fehlt.

Zunächst wurden die Präparate einer allgemeinen, orientierenden pharmakologischen Prüfung unterzogen. Dabei zeigte es sich, daß zwischen den Jodmethylaten und den Methylsulfaten derselben Verbindung kein Unterschied in der physiologischen Wirksamkeit besteht. Es werden deshalb nur die Prüfungsprotokolle der Methylsulfate der Acetyl- bzw. der Isobutyrylverbindung angeführt und mit den entsprechenden Werten von Prostigmin verglichen.

1. Prüfung am isolierten Froschherzen.

An dem nach Straub isolierten Froschherzen bewirken sowohl Am als Bm und Prostigmin eine Abnahme der Amplitude. Die schwächsten Konzentrationen, welche eine solche Wirkung besitzen, sind:

für Am	10^{-7}
für Bm	10^{-8}
für Prostigmin	10^{-6}

Höhere Konzentrationen haben stärkere Abnahme und schließlich Stillstand in Mittelstellung zur Folge. Die geringsten Konzentrationen, welche diese Wirkung haben, sind:

für Am	10^{-2}
für Bm	10^{-2}
für Prostigmin	$2 \cdot 10^{-4}$

2. Wirkung auf den Blutdruck.

Am urethannarkotisierten Kaninchen (1,2 g/kg subcutan) bewirken alle drei Substanzen eine kurzdauernde Blutdrucksenkung. Die schwächsten Dosen, welche eine Senkung von mindestens 10 mm Hg machen, sind:

für Am	0,1 mg/kg
für Bm	0,025 mg/kg
für Prostigmin	0,025 mg/kg

3. Wirkung auf den isolierten Kaninchendarm.

Der in üblicher Weise in Tyrodelösung suspendierte isolierte Kaninchendünndarm kontrahiert sich nach Zugabe folgender schwächster Konzentrationen der drei geprüften Substanzen:

Am	10^{-3}
Bm	10^{-6}
Prostigmin	10^{-7}

4. Wirkung auf den Kaninchendarm in situ.

Auch hier tritt nach folgenden Minimalgaben der geprüften Substanzen Erregung auf:

Am	0,001 g/kg
Bm	0,0001 g/kg
Prostigmin	0,00005 g/kg

5. Prüfung am ioslierten Meerschweinchenuterus.

In folgenden Minimalkonzentrationen wirken die drei Substanzen erregend auf den isolierten Meerschweinchenuterus:

Am	10^{-4}
Bm	$5 \cdot 10^{-4}$
Prostigmin	10^{-6}

6. Abführwirkung an der Maus.

Während bei peroraler Darreichung Am keine abführende Wirkung besitzt, wirkt Bm in Dosen von 5 mg pro 20 g Maus, Prostigmin jedoch schon in Dosen von 0,1 mg pro 20 g Maus stark abführend.

7. Wirkung auf die Pupille.

Die Wirkung auf die Pupillenweite wurde am Kaninchen und an der Katze durch Einträufeln einer 1 %igen Lösung ins Auge geprüft. Am ist wirkungslos. Bm und Prostigmin erzeugen eine deutliche Miose, wobei die Wirkung von Prostigmin etwas anhaltender ist.

8. Toxizität.

Die Giftigkeit der Präparate wurde am Kaninchen bei intravenöser Zufuhr geprüft. Die kleinsten tödlichen Dosen waren:

für Am	0,15	g/kg
für Bm	0,005	g/kg
für Prostigmin	0,000 05	g/kg

Ein Überblick über diese allgemeine pharmakologische Prüfung zeigt, daß die beiden Substanzen Am und Bm gleichartig wirken wie Prostigmin. Am ist, entsprechend der aufgestellten Arbeitshypothese. durchweg schwächer wirksam als Bm, während letzteres nur in seiner Blutdruckwirkung und am isolierten Froschherzen die Wirksamkeit des Prostigmins erreicht.

9.

Die Substanzen wurden weiter auf ihre spezifische Wirkung der Cholinesterasehemmung vergleichend untersucht. Wir benutzten dazu die Auswertung am Blutegelpräparat [Führer (10), Minz (11)].

Abb. 1.

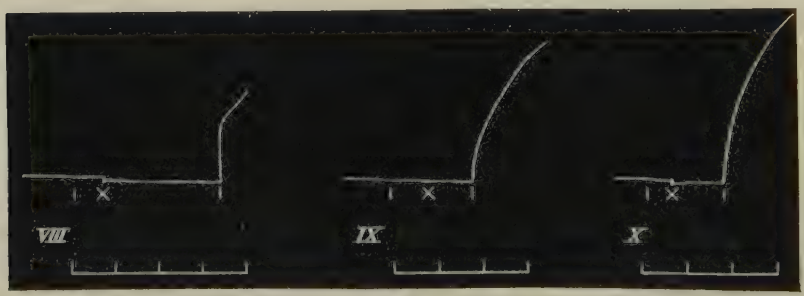


Abb. 2.

Legende zu Abb. 1 und 2: Protokoll-Nr. 25. Kleinste wirksame Acetylcholinkonzentration am unvorbehandelten Präparat: $5 \cdot 10^{-4}$.
Versuch V: 1. Strich = Zugabe von 10 γ/ccm Bm, bei × wurde das Kymographion 15′ angehalten. 2. Strich = Zugabe von Acetylcholin 10^{-5}.
„ VI: Dasselbe mit Zugabe von 20 γ/ccm Bm.
„ VII: „ „ „ „ 30 γ/ccm Bm.
„ VIII: „ „ „ „ 40 γ/ccm Bm.
„ IX: „ „ „ „ 50 γ/ccm Bm.
„ X: „ „ „ „ 60 γ/ccm Bm.
Zeitschreibung: 1 Minute.

und ferner bestimmten wir die Spaltungsgeschwindigkeit des Acetylcholins nach der Methode von Ammon (12) im Warburg-Apparat.

a) Der Rückenmuskel des Blutegels wird mit den üblichen Kautelen präpariert und in Ringerlösung suspendiert. Nachdem die Empfindlichkeit dieses Präparats gegenüber Acetylcholin festgestellt ist, wird es mit der zu prüfenden Substanz vorbehandelt, und hierauf wieder die kleinste wirksame Dosis Acetylcholin ermittelt. Dabei können wir die Dosen der eserinartigen Substanz variieren und die Acetylcholinmenge unverändert lassen. An der Höhe des Ausschlags des Schreibhebels hat man dann ein Maß für die Stärke der esterasehemmenden Wirkung. Die Abb. 1 und 2 zeigen ein Beispiel für diese Art der Prüfung.

Da aber die Höhe des Hebelausschlags nicht genau quantitativ zu verwerten ist, gehen wir besser so vor, daß wir die Menge der Substanz, mit welcher wir das Präparat vorbehandeln, für alle Versuche gleich groß wählen, und dann die kleinstwirksame Menge Acetylcholin bestimmen, die noch eine Kontraktion erzeugt. Wir wählten für Prostigmin, Am und Bm eine einheitliche Konzentration von $5 \cdot 10^{-4}$, da Am in stärkerer Verdünnung nicht mehr wirksam ist. Die Blutegelpräparate wurden je 15 Minuten vorbehandelt. Die Resultate sind in den folgenden Tabellen zusammengestellt.

Tabelle 1. Bestimmung der schwächsten wirksamen Acetylcholinkonzentration am unvorbehandelten Blutegelpräparat.

Prot.-Nr.	Konzentration	γ/ccm	Prot.-Nr.	Konzentration	γ/ccm	Prot.-Nr.	Konzentration	γ/ccm
20	10^{-5}	10	31	$2 \cdot 10^{-4}$	50	43	$5 \cdot 10^{-4}$	20
21	10^{-5}	10	32	10^{-5}	10	45	10^{-3}	1000
22	10^{-5}	10	33	10^{-4}	100	46	10^{-4}	1000
23	$5 \cdot 10^{-4}$	20	34	10^{-3}	1000	47	$5 \cdot 10^{-4}$	20
24	10^{-4}	100	35	$5 \cdot 10^{-3}$	200	48	10^{-5}	10
26	$5 \cdot 10^{-4}$	20	37	10^{-4}	100	49	$5 \cdot 10^{-4}$	20
27	10^{-5}	10	38	10^{-3}	1000	51	10^{-5}	10
28	$2 \cdot 10^{-3}$	500	40	$5 \cdot 10^{-3}$	200	52	$5 \cdot 10^{-4}$	20
29	$5 \cdot 10^{-4}$	20	41	10^{-5}	10	53	10^{-5}	10
30	10^{-5}	10	42	10^{-5}	10			

Mittelwert: 158,6 γ/ccm. Mittlerer Fehler: $\varepsilon = 58$. (In 55% der Fälle lag die kleinste wirksame Dosis zwischen 10 und 20 γ/ccm.)

In gleicher Weise wurde die schwächste wirksame Acetylcholinkonzentration ermittelt, nachdem das Blutegelpräparat mit Am, Bm und mit Prostigmin vorbehandelt worden war. Tabelle 2 zeigt eine Zusammenstellung der aus diesen Versuchsresultaten gewonnenen Mittelwerte.

Tabelle 2. Bestimmung der schwächsten Acetylcholinkonzentration, die am Rückenmuskelpräparat des Blutegels eine deutliche Kontraktion hervorruft.

Am	unvorbehandelten Blutegelpräparat	$158{,}6 \pm 58$ γ/ccm	Ringer
„	mit „Am" vorbehandelten Blutegelpräparat ...	$79{,}3 \pm 17{,}7$ „	„
„	„ „Bm" „ „ ...	$57{,}6 \pm 10{,}6$ „	„
„	„ Prostigmin vorbehandelten Blutegelpräparat	$14{,}2 \pm 5{,}6$ „	„

Die starke Streuung dieser Resultate kommt daher, daß die vier Blutegelpräparate mit den Protokollnummern 34, 38, 45 und 46 stark aus der Reihe fallen und durchweg, auch nach Vorbehandlung mit den geprüften Substanzen, eine relativ viel geringere Empfindlichkeit gegenüber Acetylcholin zeigten als die übrigen Präparate.

b) Bei der Bestimmung der Cholinesterasehemmungsfähigkeit einer Substanz nach Ammon (12) wird die bei der Acetylcholinspaltung frei werdende Kohlensäure quantitativ gemessen. Wir prüften die Cholin-

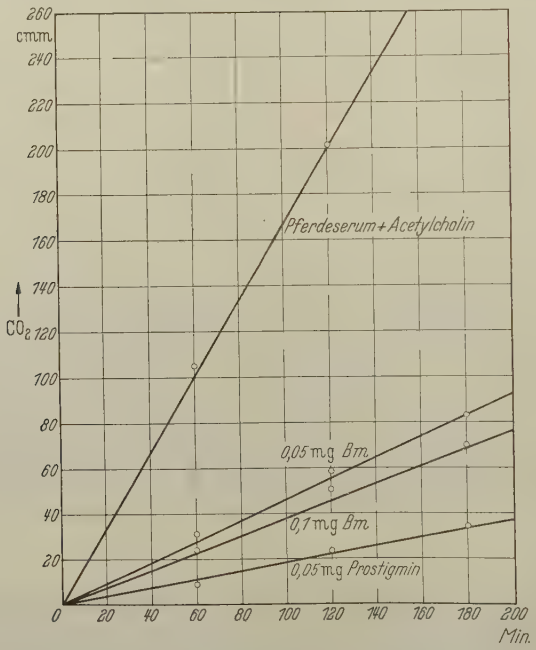


Abb. 3. Acetylcholinspaltung durch Pferdeserum allein, mit Zusatz von Prostigmin und mit Zusatz von Isobutyryl-3-Oxyphenyltrimethylammoniummethylsulfat (Bm).

esterasehemmung durch die genannten Präparate in frischem Pferde- und Menschenserum. Der Versuch begann stets ungefähr $1^1/_2$ Stunden nach der Blutentnahme. Jedoch zeigten Vergleichsuntersuchungen, daß die Cholinesterase noch nach 5 Tagen in gleicher Aktivität im Serum vorhanden ist, wenn dieses im Eisschrank unter Toluol aufbewahrt wird.

Der Spaltungsverlauf war stets linear. Die Eigenhydrolyse des Acetylcholins (Acetylcholinchlorid „Roche") betrug in unseren Versuchen 3—4,5 cmm CO_2 nach 60 Minuten und konnte bei der Bewertung der Ergebnisse vernachlässigt werden. Die angegebenen Werte sind stets auf ein Gesamtvolumen von 2 ccm bezogen, die sich in je einem Trog des Warburg-Apparates befanden (0,5 ccm Serumlösung + 1,5 ccm Acetyl-

cholinchloridlösung, was bei den angewandten Verdünnungen einer Gesamtkonzentration an Acetylcholin von 0,375 % und an Serum von 0,5 % entspricht). Temperatur im Thermostaten: 37,6° C.

Die Resultate sind im folgenden tabellarisch zusammengestellt. In Abb. 3 ist als Beispiel für den Verlauf eines solchen Spaltungsvorgangs die Acetylcholinspaltung durch Pferdeserum allein und mit Zusatz von Bm und von Prostigmin graphisch dargestellt.

Tabelle 3.

| | | |

Zusammenfassung.

1. Es wird als Arbeitshypothese angenommen, daß pharmakologische Wirkung und spezifische Adsorption häufig parallel gehen.

2. Ausgehend vom Hydridverschiebungssatz wird angenommen, daß isomorph sich vertretende Moleküle oder Gruppen vom Organismus schlecht differenziert werden, so daß sie ähnliche physiologische Wirksamkeit besitzen. Dafür werden Beispiele angeführt.

3. Es wird die Darstellung des Isobutyryl-3-Oxyphenyltrimethylammoniummethylsulfats, eines Isosteren des Prostigmins, und einiger anderer neuen Verbindungen beschrieben.

4. Ihre pharmakologische Wirkung, sowie die des Prostigmins wird am isolierten Froschherzen, am Blutdruck des Kaninchens, am isolierten Meerschweinchenuterus und Kaninchendarm und am Kaninchendarm in situ untersucht; ferner werden die miotische Wirkung an der Pupille des Kaninchens und der Katze, die abführende Wirkung an der Maus und die Toxizität ermittelt. Ihre cholinesterasehemmende Wirkung wird mit dem Blutegeltest und im Warburg-Apparat quantitativ bestimmt.

5. Es zeigt sich, daß keine der Substanzen die Wirksamkeit des Prostigmins erreicht. Jedoch ist entsprechend der aufgestellten Arbeitshypothese die dem Prostigmin isostere Verbindung stärker wirksam als die zum Vergleich untersuchte Acetylverbindung.

Literatur.

1) Grimm, H. G., M. Günther u. H. Tittus: Z. physik. Chem. (B) **14**, 169 (1931). — 2) Erlenmeyer, H., u. E. Willi: Helv. Chim. Acta **18**, 740 (1935). — 3) Stedman, E., u. G. Barger: J. Chem. Soc. **127**, 247 (1925). — 4) Barger, G.: Festschrift E. Barell, S. 10, Basel 1936. — 5) Stedman, E.: Biochem. J. **20**, 719 (1936). — 6) Aeschlimann, J. A., u. M. Reinert: J. Pharmacol. (Am.) **4** , 413 (1931). — 7) White, A. C., u. E. Stedman: Ebenda **41**, 259 (1931). — 8) Goldberger, L. v.: Diss. Zürich, Budapest 1892. — 9) Meyenburg, F. v.: Ber. dtsch. chem. Ges. **29**, 501 (1896). — 10) Führer, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **82**, 81 (1918). — 11) Minz, B.: Ebenda **168**, 292 (1932). — 12) Ammon, R.: Pflügers Arch. **233**, 486 (1933).

Aus dem Physiologischen und Allgemeinen Pathologischen Institut der Universität Debrecen.

Histamingehalt von Organen der weißen Ratte.

Von

J. Martin und **A. Valenta.**

(Eingegangen am 5. Juli 1939.)

Es wurde in den vorigen Untersuchungen (1) bezüglich der Schockresistenz der weißen Ratte darauf hingewiesen, daß diese Tiere eine außerordentlich hohe Resistenz den anaphylaktischen Schock auslösenden biologisch aktiven Substanzen — Histamin, Cholin und Acetylcholin — gegenüber zeigen. Es wurde ferner nachgewiesen, daß diese Resistenz der weißen Ratte gegenüber den genannten Schocksubstanzen in mindestens drei verschiedenen Faktoren begründet zu sein scheint: 1. in der Eigenschaft der glatten Muskelelemente, wodurch diese das Eindringen von Wirkstoffen in die Zelle zu verhindern fähig sind, 2. in der herabgesetzten Empfindlichkeit der autonomen Nervenendigungen und 3. in der kompensatorischen Funktion des Nebennierenmarks.

Nach diesen Feststellungen folgt aber auch die Frage, ob die Schockresistenz der weißen Ratte allein durch eine erhöhte Toleranz gegen die genannten Schocksubstanzen verursacht wird, oder in dieser Hinsicht auch andere, nicht weniger wichtigen Faktoren eine Rolle spielen. Es liegt vor allem der Gedanke nahe, daß bei diesen Tieren das Ausbleiben der Schockerscheinungen damit zu erklären ist, daß den anaphylaktischen Schock auslösende Substanzen — welche auf die glatten Muskelelemente der weißen Ratten sowieso nur in außerordentlich hohen Konzentrationen wirksam sind — in den Organen dieser Tiere nur in herabgesetzter Menge anwesend sind und während des Schocks in ungenügender Konzentration freigegeben werden.

Zur Klärung dieser Frage haben wir den Histamingehalt verschiedener Organe der weißen Ratte bestimmt. Die Bestimmungen erfolgten nach der Codeschen Modifizierung (2) der Methode von Barsoum und Gaddum (3).

Extrakte wurden von den folgenden Organen bereitet: Blut Herz, Lunge, Skeletmuskeln, Haut, Milz und Leber. Jede Versuchsreihe wurde an den Organen von 3—5 Ratten durchgeführt. Die Tiere waren durch die Carotis entblutet und die abgemessene Blutmenge in 10%ige Trichloressigsäure aufgefangen. Die Organe wurden zerstückelt, abgewogen, 10 bis 15 Minuten lang mit Seesand und 10%iger Trichloressigsäure verrieben, nach einstündigem Stehen filtriert und $1^1/_2$ Stunden lang mit konzentrierter Salzsäure im Wasserbad gekocht. Sie waren dann mit Alkohol

Tabelle 1.

Versuch	Lunge			Herz			Haut			Muskel			Milz			Leber			Blut	
	Gewicht des verarbeiteten Organs in g	Histamingehalt in mg	Histamingehalt in mg umgerechnet auf 1000 g Untersuchungsmaterial	Gewicht des verarbeiteten Organs in g	Histamingehalt in mg	Histamingehalt in mg umgerechnet auf 1000 g Untersuchungsmaterial	Gewicht des verarbeiteten Organs in g	Histamingehalt in mg	Histamingehalt in mg umgerechnet auf 1000 g Untersuchungsmaterial	Gewicht des verarbeiteten Organs in g	Histamingehalt in mg	Histamingehalt in mg umgerechnet auf 1000 g Untersuchungsmaterial	Gewicht des verarbeiteten Organs in g	Histamingehalt in mg	Histamingehalt in mg umgerechnet auf 1000 g Untersuchungsmaterial	Gewicht des verarbeiteten Organs in g	Histamingehalt in mg	Histamingehalt in mg umgerechnet auf 1000 g Untersuchungsmaterial	Menge des verarbeiteten Blutes in ccm	Histamingehalt in mg
I.	5.5	0,0561	10,2	2,6	0,0086	3,32	9,2	0,1895	20,6	20,0	0,2100	10,5	3.7	0,005 99	1,62	20.0	0,0260	1,3	7	Ø*
II.	7,0	0,0350	5,0	3,0	0,0075	2,5	9,6	0,1206	12,5	15,0	0,7995	5,33	3,3	0,004 26	1,29	20,0	0,009	0,45	10	Ø
III.	7,0	0,0550	7,86	3,7	0,0130	3,51	9,5	0,1197	12,6	20,0	0,0910	4,55	3.5	0,002	0,57	20,0	0,012	0,6	15	Ø
IV.	6,0	0,0213	3,54	2,9	0,0055	1,9	15,0	0,2505	16,7	20,0	0,1770	8,85	3,5	0,005	1,43	20,0	0,012	0,6	15	Ø

* Histamin nicht nachweisbar.

Tabelle 2.

	Blut	Lunge	Herz	Haut	Muskel	Milz	Leber
	Menge des Histamins in 1000 g Untersuchungsmaterial in mg						
Erwachsene Meerschweinchen	1 – 1,5	10 – 32	—	—	—	—	0,5 – 8
Junge Meerschweinchen	—	0 – 4	—	—	—	—	—
Kaninchen	9,6 – 12	—	1,8 – 3,4	9 – 20	—	—	—
Katze	*	—	—	—	3,3 – 7,5	—	—
Hund	0,04 0,075	14 – 30	3 – 7	—		0.7 – 10	35 – 61**

* Weniger als 0,012 mg. — ** Wahrscheinlich Cholin und Acetylcholin anwesend.

mehrfach eingedampft, die Rückstände in dest. Wasser aufgelöst und das p_H der Lösungen auf schwach alkalisch eingestellt.

Der Histamingehalt der Extrakte wurde biologisch am Blutdrucke atropinisierter Katzen und in Atropin enthaltender Tyrodelösung suspendierten Meerschweinchendarm bestimmt. Die mitgeteilten Werte waren mit Hilfe der von Guttentag (4) empfohlenen Standardkurve berechnet. Die gefundenen Werte sind in der Tabelle 1 zusammengefaßt.

Der Unterschied zwischen den an Blutdruck atropinisierter Katzen und an Meerschweinchendarm erhaltenen Werte war nie größer als ± 15%. Jedes Präparat wurde mit Acetylcholin kontrolliert.

Zur Vergleichung haben wir in der Tabelle 2 die Werte bezüglich des Histamingehalts der Organe anderer Tierarten zusammengefaßt. Die Zahlen sind von der in 1930 erschienenen Monographie von Feldberg und Schilf (5) übernommen und mit der neueren Angabe ergänzt.

Wenn man die Werte der beiden Tabellen nebeneinanderstellt, so sieht man, daß der Histamingehalt von Organen der weißen Ratte keine bedeutende Abweichung von Organen anderer Versuchstiere zeigt. Daraus folgt, daß die Schockresistenz der weißen Ratte nicht in der Histaminarmut dieser Tiere, sondern — wie es in unserer früheren Arbeit betont wurde — in ihrer hochgradigen Resistenz gegen die Wirkungen der Schockauslösenden biologisch aktiven Substanzen begründet liegt.

Zusammenfassung.

Der Histamingehalt von Organen der weißen Ratte (Bestimmungen nach Barsoum-Gaddum-Code) zeigt keine bedeutende Abweichung von Organen anderer Versuchstiere. Die Schockresistenz der weißen Ratte liegt daher nicht in der Histaminarmut dieser Tiere, sondern in ihrer hochgradigen Resistenz gegen die Wirkungen der schockauslösenden biologisch aktiven Substanzen begründet.

Literatur.

1) Went, I., u. J. Martin: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 545 (1939). — 2) Code, C. F.: J. Physiol. (Brit.) **89**, 257 (1937). — 3) Barsoum, G. S., u. S. H. Gaddum: Ebenda **85**, 1—14 (1935). — 4) Guttentag, O. E.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **162**, 727 (1931). — 5) Feldberg, W., u. E. Schilf: Histamin. Verlag Jul. Springer, 1930.

Aus dem Physiologischen und Allgemeinen Pathologischen Institut der Universität Debrecen.

Einfluß der Sensibilisierung auf die Histamin-, Cholin- und Acetylcholinempfindlichkeit von Meerschweinchen und Ratten.

Von

J. Martin und **S. Went.**

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 5. Juli 1939.)

Auf Grund unserer früheren Untersuchungen bezüglich des Entstehungsmechanismus anaphylaktischer Erscheinungen haben wir jene Auffassung geäußert, daß beim anaphylaktischen Schock aus den einzelnen Gewebsarten ihrer chemischen Zusammensetzung und speziellen Funktion entsprechend und in Abhängigkeit von der Schwere der Läsion, biologisch wirksame Stoffe verschiedener Natur und Wirkung frei werden — so aus der Lunge Histamin, aus dem Herzmuskel Cholin, aus den adrenalinbildenden Geweben Adrenalin —, welche vor allem Störungen in der chemischen Regulation des vegetativen Nervensystems zustande bringen. Die Ursache dieser Störungen glaubten wir darin zu suchen, daß die Empfindlichkeit der autonomen Nervenendigungen den chemischen Regulatoren gegenüber im Laufe der Sensibilisierung verändert wird. Zu letzterer Annahme sind wir auf Grund eines Versuchs gelangt, in dem die Cholinempfindlichkeit des normalen und sensibilisierten Meerschweinchenherzens untersucht wurde (1). Es wurde gefunden, daß sich das Cholin beim normalen Herz nur in höheren Konzentrationen (höchstens bis 1 : 5000 Verdünnung) als wirksam erwies (einfache negativ chronotrope Wirkung), wogegen das sensibilisierte Herz auch auf Cholinlösungen von bedeutend höherer Verdünnung (1 : 20000—30000) reagierte; die letztere Wirkung offenbarte sich nicht nur in einer Frequenzabnahme, sondern auch in einer für den anaphylaktischen Schock des isolierten Herzens charakteristischen Arhythmie.

Es ist also unvermeidlich, auf Grund dieser Beobachtung bezüglich des Entstehungsmechanismus anaphylaktischer Erscheinungen mit einem neuen Faktor zu rechnen. Man kann nämlich annehmen, daß die Empfindlichkeit sensibilisierter Organe nicht nur Cholin, sondern auch anderen, in der Auslösung anaphylaktischer Erscheinungen eine Rolle spielenden biologisch aktiven Stoffen gegenüber verändert wird. Als Ursache der pathologisch veränderten Funktionen könnte daher nicht nur der Umstand angegeben werden, daß aus den Geweben verschiedene biologisch wirksame

Stoffe in erhöhter Menge freigegeben werden, sondern daß durch Sensibilisierung die Empfindlichkeit der glatten Muskelelemente oder die der autonomen Nervenendigungen denselben Stoffen gegenüber erhöht wird.

Auf Grund dieser Überlegungen untersuchten wir die Empfindlichkeit normaler und sensibilisierter Meerschweinchen und Ratten den drei Schocksubstanzen, Histamin, Cholin und Acetylcholin gegenüber. An Blutdruck, Bronchialmuskulatur und isoliertem Herz normaler Tiere haben wir schon früher (2) die nachfolgenden Empfindlichkeitswerte gefunden (siehe den oberen Teil der Tabelle).

Einfluß der Sensibilisierung auf die Histamin-, Cholin- und Acetylcholinempfindlichkeit von Meerschweinchen und Ratten.

	Kleinste noch wirksame Mengen der Schocksubstanzen in mg					
	Histamin		Cholin		Acetylcholin	
	Ratte	Meerschweinchen	Ratte	Meerschweinchen	Ratte	Meerschweinchen
			Normaltiere.			
Blutdruck	0,5 (Senkung)	0,05 (Steigerung)	ohne Wirkung	0,02	0,01	0,001
Bronchospasmus	0,001	0,000 000 1	1	0,05	0,01	0,000 000 05
Herz	0,1	0,000 02	0,5	**0,25**	0,000 2	0,000 01
			Sensibilisierte Tiere.			
Blutdruck	0,1 (Senkung)	0,05 (Steigerung)	ohne Wirkung	0,02	0,05	0,000 1
Bronchospasmus	—	0,000 000 1	2	0,05	0,01	0,000 000 1
Herz	0,02	0,000 02	0,1	**0,0005**	0,000 01	0,000 005

Wir haben in den nachfolgenden Versuchen Meerschweinchen mit 0,2 ccm und Ratten mit 0,5 ccm Rinderserum intraperitoneal sensibilisiert. Es wurde 18—25 Tage nach der Sensibilisierung die Histamin-, Cholin- und Acetylcholinempfindlichkeit auf Blutdruck, Bronchialmuskulatur und isoliertem Herz untersucht. Die Versuchsmethodik war dieselbe, die früher (2) an normalen Tieren angewendet wurde. Die gefundenen Werte sind in dem unteren Teil der Tabelle zusammengefaßt.

Wenn man die Werte des oberen und unteren Teiles der Tabelle nebeneinanderstellt, so sieht man, daß isolierte Herzen sensibilisierter Ratten gegen Histamin, Cholin und Acetylcholin etwas empfindlicher sind als die Herzpräparate normaler Ratten. Diese Unterschiede scheinen aber ziemlich unbedeutend zu sein, um davon weitgehende Schlüsse ziehen zu können. Die Bestimmung der kleinsten noch wirksamen Mengen der Schocksubstanzen erfolgte zwar in jedem Falle an mehreren Versuchstieren, doch sind diese Bestimmungen von solcher Natur, daß sie nur für eine approximative Orientierung verwertet werden können. Wir wollen also den Unterschieden, welche zwischen Reaktionsbereitschaft normaler und sensi-

bilisierter Rattenherzen bestehen, keine größere Wichtigkeit zuschreiben. Es ist jedenfalls auch hier auffallend, daß es immer die sensibilisierten Herzpräparate waren, die eine 5—20fach gesteigerte Empfindlichkeit äußerten, und nie umgekehrt.

Viel auffallender sind aber die Unterschiede zwischen Cholinempfindlichkeit normaler und sensibilisierter Meerschweinchenherzen. Während nämlich die auf das Normalherz noch wirksame kleinste Cholinmenge in

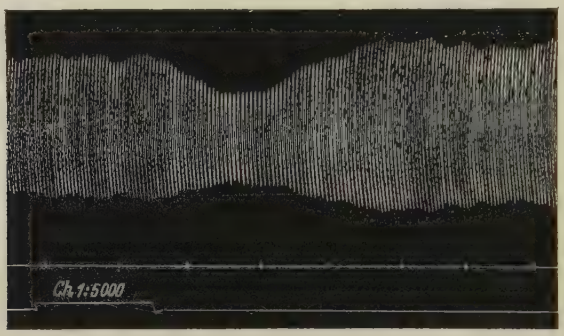


Abb. 1 a.

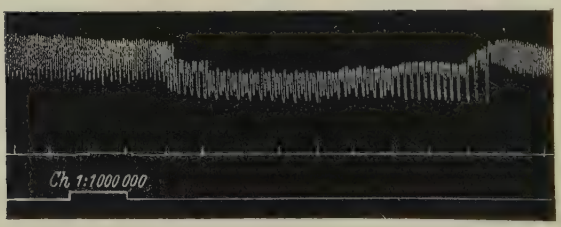


Abb. 1 b.

Versuch a: Wirkung einer 1:5000 verdünnten Cholinlösung auf das isolierte Herz eines normalen Meerschweinchen.
Versuch b: Wirkung einer 1:1000000 verdünnten Cholinlösung auf das isolierte Herz eines sensibilisierten Meerschweinchen.

0,25 mg festgestellt wurde, reagiert das sensibilisierte Herz schon auf eine Cholinmenge von 0,0005 mg. Dies bedeutet, daß 1 ccm Cholinlösung in die Herzkanüle eingespritzt, beim Normalherz nur in einer Verdünnung von 1 : 5000, bei sensibilisiertem Herzen dagegen auch in einer Verdünnung von 1 : 2000000 wirksam ist, d. h. daß die Cholinempfindlichkeit des sensibilisierten Meerschweinchenherzens um das 400—500fache erhöht wurde. Die Cholinwirkung äußerte sich daneben an normalen Herzen in einer Abnahme der Frequenz und Kontraktionsamplitude (negativ chronotrope und inotrope Wirkung), wogegen an sensibilisierten Herzen auch die für den anaphylaktischen Schock des Herzens charakteristische Arhythmie sich äußerte (Abb. 1).

Diese Versuchsresultate bestätigen unsere schon lange her geäußerte Auffassung, daß die anaphylaktische Reaktion des Meerschweinchenherzens mit der durch die Sensibilisierung veränderten Cholinempfindlichkeit des Organs in engstem Zusammenhang steht. Wie schon vorher erwähnt wurde, verhält sich das isolierte Herz von Ratten ähnlich; die Empfindlichkeit des letzteren hat alle drei Schocksubstanzen gegenüber zugenommen, doch in viel geringerem Maße, wie beim Meerschweinchenherzen. Die Reaktionsbereitschaft der übrigen untersuchten Organe — Arterien und Bronchialmuskulatur — wurde durch die Sensibilisierung kaum oder gar nicht verändert.

Die einzige auffallende Tatsache also, welche auf Grund der mitgeteilten Versuche mit Sicherheit festgestellt werden kann, ist, daß auf Einführung von 0,2 ccm artfremdem Serum die Empfindlichkeit des isolierten Meerschweinchenherzens gegenüber Cholin auf das Mehrhundertfache erhöht wird. Die Erscheinung kann keineswegs leicht erklärt werden. Es scheint in dieser Hinsicht die Tatsache verwertbar zu sein, daß sich an sensibilisierten Herzen die Wirkung von hochverdünnten Cholinlösungen nicht nur in einer positiv chronotropen und inotropen Wirkung offenbarte, sondern auch in einer für den anaphylaktischen Schock des Herzens charakteristischen Arhythmie. Man könnte daraus folgern, daß der Sitz der veränderten Cholinempfindlichkeit in erster Linie im Reizleitungssystem zu suchen ist. Es wird nach dieser Erklärung auf die Wirkung der eingeführten artfremden Eiweißkörper die Permeabilität oder Affinität des Reizleitungssystems gegenüber Cholin stark erhöht, so daß diese Elemente auch in der Anwesenheit von niedrigeren Cholinkonzentrationen vergiftet wurden. Eine andere Erklärung wäre, daß im sensibilisierten Herzmuskel die Veresterung des Cholins leichter zustande kommt, als im normalen.

Zusammenfassung.

Es wurde die Histamin-, Cholin- und Acetylcholinempfindlichkeit von sensibilisierten Meerschweinchen und Ratten untersucht. Die Untersuchungen waren am Blutdruck, Bronchialmuskulatur und an isolierten Herzen von normalen und sensibilisierten Tieren unternommen. Es wurde festgestellt, daß die Cholinempfindlichkeit des isolierten Meerschweinchenherzens durch Sensibilisierung auf das Mehrhundertfache erhöht wird. Bezüglich der Histamin- und Acetylcholinwirkung und der Reaktionsbereitschaft der untersuchten übrigen Organe konnte ein derartiger Einfluß der Sensibilisierung nicht festgestellt werden.

Literatur.

1) Went, F., u. K. Lissák: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 466 (1936). — 2) Went, I., u. J. Martin: Ebenda **191**, 545 (1939).

Aus dem Physiologischen und Allgemeinen Pathologischen Institut der Universität Debrecen.

Antithyreoglobulin und Antithyroxin.

Von

S. Went, K. Piribauer und **L. Kesztyüs.**

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Juli 1939.)

Die Antihormonfrage — welche seit den Untersuchungen von Collip und seinen Mitarbeitern eine neue Aktualität erreicht hat — wurde zuerst durch amerikanische Serologen aufgeworfen. Im Jahre 1923 untersuchten Hektoen und Schulhof (1), einige Jahre später Hektoen, Fox und Schulhof (2) die antigene Eigenschaft von menschlichen und tierischen Thyreoglobulinpräparaten mittels Präzipitinreaktion; sie stellten fest, daß auf wiederholte Thyreoglobulininjektionen in Kaninchen spezifische Thyreoglobulinpräzipitine erzeugt werden, weiter, daß die nach der Methode von Oswald hergestellten Thyreoglobulinpräparate von verschiedenen Säugetieren serologisch identisch sind, oder mindestens einander sehr nahestehen.

Diese Beobachtungen bezüglich der antikörperbildenden Eigenschaft des Thyreoglobulins wiesen auch auf die Möglichkeit hin, daß dieselben Antikörper nicht nur in serologischem, sondern auch in physiologischem Sinne eine antagonistische Wirkung gegen die die aktive Substanz der Schilddrüse enthaltenden Eiweißkörper entfalten. Schulhof (3) hat in Ratten zusammen mit Thyreoglobulin ein hochwirksames, thyreoglobulinpräzipitierendes Kaninchenimmunserum eingespritzt und untersuchte die Wirkung des auf diese Weise eingeführten Thyreoglobulins auf die Stoffwechsel der Versuchstiere; in diesen Versuchen wurde aber durch das Thyreoglobulinimmunserum die physiologische Wirkung des Thyreoglobulins durchaus nicht beeinflußt. Rosen und Marine (4) behandelten mehrere Monate lang Kaninchen mit intraperitonealen Thyreoglobulininjektionen und haben inzwischen wiederholt den Stoffwechsel der Tiere untersucht; auch sie konnten aber nicht eine Abnahme der Reaktionsbereitschaft der Versuchstiere gegen die stoffwechselsteigernde Wirkung des Thyreoglobulins feststellen. Kestner (5) berichtet dagegen über positive Resultate. Er behandelte Hammel intravenös mit Schweineschilddrüsenextrakten und beobachtete, daß das so gewonnene Hammelblutserum in Kaninchen, Hunde und Ratten eingespritzt, den Stoffwechsel der Tiere tief unter die normalen Werte drückte. Über ähnliche positive Ergebnisse berichtet auch Bauer (6), (7); diese Versuchsresultate scheinen aber darum über-

raschend zu sein, da diesmal nicht durch Thyreoglobulin-, sondern durch einfache Thyroxinbehandlung eine serologisch und auch physiologisch nachweisbare Antikörperbildung erzielt wurde.

Eine große Bedeutung soll den von Clutton, Harington und Yuill (8), (9), (10) in den letzten Jahren durchgeführten Untersuchungen beigemessen. Diese Autoren haben die Thyroxylderivate von Pferdeserumalbumin und -globulin und von Thyreoglobulin von Menschen und Ochsen synthetisch hergestellt und untersuchten die Antigeneigenschaften von solchen Thyroxineiweißkomplexen. Sie stellten fest, daß alle Thyroxylproteine mit ihren homologen Antiseren eine kräftige und spezifische Präzipitation zeigen. Es stellte sich dabei heraus, daß bei diesen Komplexen die Thyroxingruppen die Träger der Antigeneigenschaften sind, und zwar hat die ganze aromatische Gruppe des Thyroxinmoleküls Haptencharakter. — Es wurden nachher junge Ratten mit Antiserum gegen Thyroxylglobulin und Thyroxylthyreoglobulin passiv immunisiert und ihnen dann Thyreoglobulin injiziert. Vor und während den Thyreoglobulingaben wurde der Stoffwechselumsatz der Ratten bestimmt. Es ergab sich, daß der Stoffwechselumsatz der Versuchstiere während der Thyreoglobulinzufuhr bedeutend weniger erhöht war als der Umsatz der mit normalem Serum behandelten Kontrollratten. Ebenso wurde die Wirkung von Thyroxin auf die Ratten durch Vorbehandlung mit Thyroxylproteinantiseren erheblich abgeschwächt. — Bezüglich der Frage, ob Thyreoglobulin selbst ein Antigen ist, neigen die Verfasser zu der Auffassung, daß diese Substanz keine Antigeneigenschaften besitzt und, daß die früher beobachtete Präzipitinbildung auf Verunreinigungen (Gewebeproteine) zurückzuführen ist.

Unsere nachfolgenden Versuche wurden an Ratten, Meerschweinchen und Kaninchen durchgeführt. Es wurde untersucht ob auf parenterale Thyreoglobulinbehandlung in den Versuchstieren Antikörper erzeugt werden, welche nicht nur in serologischem, sondern auch in physiologischem Sinne eine gegen das Schilddrüsenhormon gerichtete antagonistische Wirkung entfalten.

Versuche an Ratten.

Diese Versuchsreihe wurde an 20 erwachsenen, jungen männlichen Ratten durchgeführt. Der Stoffwechselumsatz der bei Standardkost gehaltenen Tiere wurde vorerst viermal mit der Benedictschen Methode bestimmt. Die Tiere erhielten nachher 14—16mal zunehmende (6, 15, 20, 60 mg) Mengen des nach der Methode von Oswald hergestellten Ochsen-Thyreoglobulins. Der Stoffwechselumsatz wurde während der Behandlung wiederholt bestimmt. Nach der Thyreoglobulinbehandlung untersuchten wir den Einfluß größerer (2, 6, 10, 20 mg) Thyroxinmengen auf den O_2-Verbrauch der Versuchstiere. Zu allen Versuchen wurden auch die entsprechenden Kontrollen eingestellt. Tabelle 1 stellt den Auszug eines Versuchsprotokolls dar.

Tabelle 1 weist auf zwei wichtige Tatsachen hin. Die eine ist, daß zwar während der ersten Phase der Thyreoglobulinbehandlung der O_2-Verbrauch

Tabelle 1.

Datum	Ratte Nr. 19				
	Behandlung	Körpergewicht g	$\frac{CO_2\ g}{kg\ Stunde}$	$\frac{O_2\ g}{kg\ Stunde}$	R.Q.
31. XII.	—	135	3,4179	3,4144	0,737
3. I.	—	128	2,8719	3,1800	0,665
5. I.	—	129	3,5457	3,4452	0,758
9. I.	—	113	3,5300	3,6820	0,706
		Mittelwerte:	**3,4164**	**3,4304**	**0,716**
12. I.	6 mg Thgl.* i. p.	—	—	—	—
13. I.	—	107	4,0380	**3,9460**	0,753
16. I.	6 mg Thgl. i. p.	—	—	—	—
17. I.	—	129	2,9752	**2,9682**	0,738
20. I.	—	150	3,0841	**2,8891**	0,786
23. I.	6 mg Thgl. i. p.	—	—	—	—
24. I.	—	138	2,7750	**2,6514**	0,770
27. I.	6 mg Thgl. i. p.	—	—	—	—
5. II.	6 „ „ „	—	—	—	—
6. II.	—	155	2,7355	**2,9444**	0,681
15. II.	6 mg Thgl. i. p.	—	—	—	—
16. II.	—	156	2,2244	**2,2395**	0,731
18. II.	6 mg Thyreoglobulin intraperitoneal	—	—	—	—
21. II.		—	—	—	—
23. II.		—	—	—	—
27. II.		—	—	—	—
3. III.		—	—	—	—
6. III.	20 mg Thgl. i. p.	—	—	—	—
14. III.	20 „ „ „	—	—	—	—
17. III.	40 mg Thgl. i. p.	—	—	—	—
23. III.	60 mg Thgl. i. p.	—	—	—	—
28. III.	60 „ „ „	—	—	—	—
3. IV.	60 „ „ „	—	—	—	—
18. IV. vormittags	—	159	3,2521	**2,9406**	0,814
18. IV. nachmittags	10 mg Thyroxin	—	—	—	—
19. IV.	—	152	3,1726	**2,9353**	0,632
20. IV.	—	159	3,1485	**2,4744**	0,937
21. IV.	—	150	3,0955	**2,7501**	0,829
22. IV.	—	148	2,4460	**2,2078**	0,815
23. IV.	—	148	2,7916	**2,4945**	0,780
24. IV.	—	146	2,3602	**2,1313**	0,815
25. IV.	—	145	2,7182	**2,6190**	0,764

* Thgl. = Thyreoglobulin.

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Datum	Ratte Nr. 24 (Kontrolle)				
	Behandlung	Körpergewicht g	CO_2 g / kg Stunde	O_2 g / kg Stunde	R.Q.
29. III. vormittags	—	158	2,6835	**2,5489**	0,775
29. III. nachmittags	3 mg Thyroxin s. c.	—	—	—	—
30. III.	—	167	2,9785	**2,8483**	0,770
31. III.	—	154	3,4949	**3,2266**	0,797
1. IV.	—	153	3,2758	**3,2265**	0,747
2. IV.	—	153	3,3269	**3,5349**	0,693
3. IV.	—	147	3,1251	**3,1090**	0,740
4. IV.	—	146	2,6853	**2,6151**	0,758
5. IV.	—	157	2,7618	**2,6678**	0,762
6. IV.	—	159	2,3974	**2,5996**	0,832
26. IV. vormittags	—	180	2,0978	**2,3453**	0,658
26. IV. nachmittags	10 mg Thyroxin s. c.	—	—	—	—
27. IV.	—	178	2,8876	**3,3046**	0,643
28. IV.	—	171	3,1626	**4,2935**	0,643
29. IV.	—	172	2,9521	**2,9348**	0,741
30. IV.	—	168	2,8506	**3,0379**	0,689
1. V.	—	166	3,2625	**3,3047**	0,727
2. V.	—	161	3,6979	**3,6415**	0,747

der Versuchstiere in geringem Maße erhöht wurde, sank derselbe später tief unter die Ausgangswerte. Die andere wichtige Beobachtung ist, daß der O_2-Verbrauch der mit Thyreoglobulin behandelten Ratten durch Einführung größerer (3—10 mg) Thyroxinmengen überhaupt nicht beeinflußt wurde, wogegen der Stoffwechselumsatz der unbehandelten Kontrolltiere auf denselben Eingriff eine Zunahme von etwa 40% zeigte. Zur Unterstützung dieser Feststellungen legen wir auch die Ergebnisse von 16 weiteren Rattenversuchen vor. Tabelle 2 und 3 stellt die Werte des O_2-Verbrauchs der Versuchstiere dar.

Wenn man nun die Zahlen der ersten drei Tabellen nebeneinanderstellt, so sieht man, daß auf die Wirkung parenteral eingeführten Thyreoglobulins der Stoffwechselumsatz der Versuchstiere stark abnimmt, weiter, daß diese Abnahme des O_2-Verbrauchs nach Einstellen der Behandlung noch wochenlang unverändert beibehalten wird.

Stellt man die Frage auf, was die Ursache dieser Erscheinung sein dürfte, so müssen wir unsere Aufmerksamkeit auf diejenigen Versuche richten, in welchen die Wirkung von verschiedenen Thyroxindosen auf den Stoffwechselumsatz thyreoglobulinbehandelter Ratten untersucht wurde.

Tabelle 2.

Datum	Behandlung	O_2 g/kg Stunde							
		1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
9. I.	—	3,4129	3,0185	3,4249	2,7028	2,7846	2,7126	2,8721	2,9504
12. I.	6 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
14. I.	—	3,9518	3,0186	2,6183	3,2551	—	3,0569	3,2785	3,1070
16. I.	6 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
17. I.	—	—	—	—	3,7179	3,3085	2,3098	3,3876	2,4380
19. I.	6 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
20. I.	—	2,9081	3,3199	—	2,6482	—	—	—	—
23. I.	6 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
25. I.	—	3,0343	3,0814	3,1098	3,0480	2,9093	2,5669	2,7727	2,6355
27. I.	6 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
31. I.	—	3,2026	2,6756	2,8940	3,6060	2,9218	2,2193	2,6811	2,9231
2. II.	6 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
3. II.	—	3,1885	—	2,5745	—	—	2,0105	2,6837	2,2157
6. II.	6 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	1,9539	2,3882
7. II.	—	3,2244	2,4866	2,8616	2,3065	2,5761	2,3039	2,9629	2,1559
8. II.	6 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
9. II.	—	2,9333	2,3814	3,3849	2,5754	2,1221	2,2206	2,3487	2,4137
15. II.	6 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
17. II.	—	2,2519	2,4802	2,7172	2,1674	2,7077	2,2342	2,3401	2,4760
18. II.	15 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
20. II.	—	—	—	—	—	—	2,1678	2,6949	2,1969
21. II.	15 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
23. II.	„ „	—	—	—	—	—	—	—	—
24. II.	—	3,0744	2,7493	2,9539	2,7476	2,5109	1,8626	2,2678	2,5820
27. II.	15 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
3. III.	„ „	—	—	—	—	—	—	—	—
6. III.	20 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
8. III.	—	2,2450	2,4001	2,5570	2,1739	2,3416	—	—	—
14. III.	20 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
17. III.	40 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
23. III.	60 mg Thgl.	—	—	—	—	—	exitus	—	—
11. IV.	—	2,4172	2,2574	2,5919	2,8706	2,3283	—	—	—

Ein solcher Versuch wurde schon in der Tabelle 1 dargestellt. Abb. 1, 2, 3 und 4 zeigen die Ergebnisse unserer weiteren Versuche.

In den Abb. 1, 2, 3 und 4 sieht man den O_2-Verbrauch von normalen (Kontrolle) und intraperitoneal mit Thyreoglobulin behandelten Ratten nach subcutaner Einführung von 3, 6, 10 und 20 mg Thyroxin. Die Kurven zeigen, daß der Stoffwechselumsatz normaler Kontrolltiere nach der Thyroxininjektion um 30—45 % erhöht wurde, während die mit Thyreoglobulin vorbehandelten Tiere auf Thyroxindosen von 3, 6 und 10 mg überhaupt nicht reagierten. Vergleicht man die Abb. 3 und 4, so sieht man auch, daß bei den mit Thyreoglobulin behandelten Ratten die kleinste noch wirksame Menge des Thyroxins zwischen 10—20 mg (etwa 15 mg) liegt. Der O_2-Verbrauch von normalen Ratten zeigt auf Thyroxingaben von 0,1—0,3 mg —wie aus der Literatur bekannt ist — eine Zunahme von 30—40 %.

Es kann also auf Grund der mitgeteilten Untersuchungen behauptet werden, daß die Thyroxinempfindlichkeit der Ratten durch parenterale

Thyreoglobulinbehandlung stark herabgesetzt wird, so daß der O_2-Verbrauch der Versuchstiere nur auf 15 mg oder mehr Thyroxin eine wahrnehmbare Steigerung zeigt. Es ist nun klar, daß die während und nach

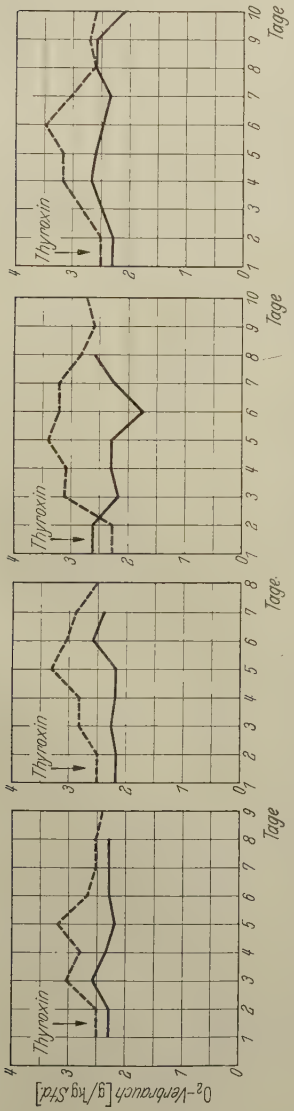


Abb. 1. Wirkung von 3 mg Thyroxin (s. c.) auf den O_2-Verbrauch normaler und mit Thyreoglobulin behandelter Ratten. — — — normal, ——— mit Thyreoglobulin behandelt.

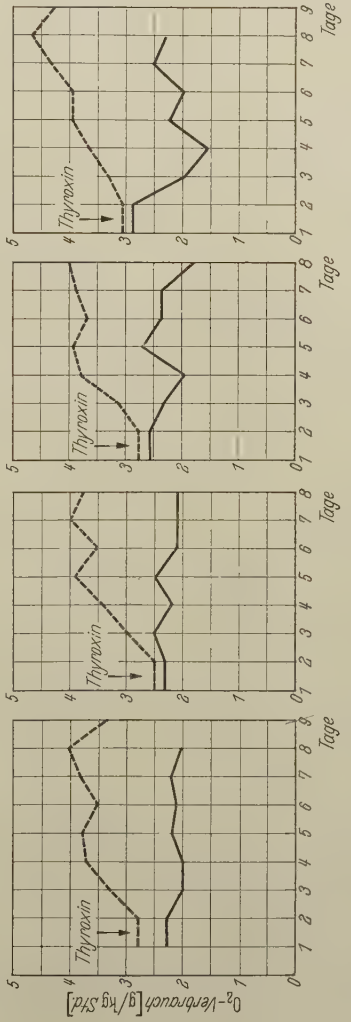


Abb. 2. Wirkung von 6 mg Thyroxin (s. c.) auf den O_2-Verbrauch normaler und mit Thyreoglobulin behandelter Ratten. — — — normal, ——— mit Thyreoglobulin behandelt.

Thyreoglobulinbehandlung beobachtete Verminderung des Stoffwechselumsatzes durch die Abnahme der Thyroxinempfindlichkeit der Versuchstiere verursacht wurde.

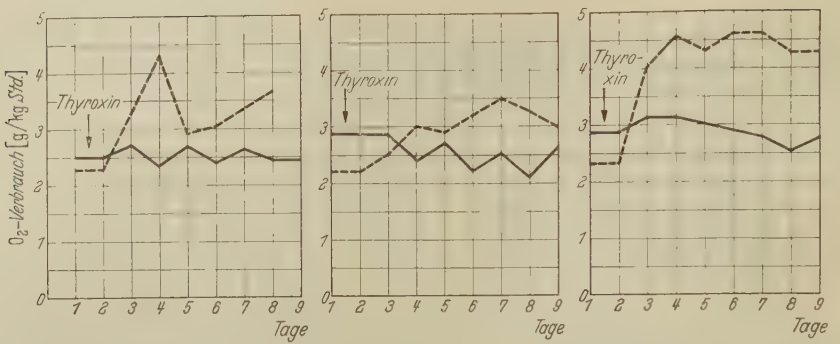


Abb. 3. Wirkung von 10 mg Thyroxin (s. c.) auf den O_2-Verbrauch normaler und mit Thyreoglobulin behandelter Ratten. — — — normal, ——— mit Thyreoglobulin behandelt.

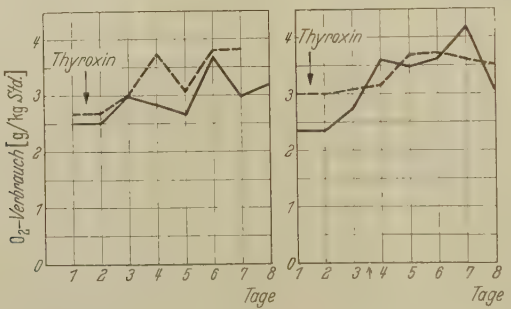


Abb. 4. Wirkung von 20 mg Thyroxin (s. c.) auf den O_2-Verbrauch normaler und mit Thyreoglobulin behandelter Ratten. — — — normal, —— mit Thyreoglobulin behandelt.

Tabelle 3.

Datum	Behandlung	O_2 g/kg Stunde							
		9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.
9. I.	—	3,2778	3,0679	3,1241	3,4304	3,3256	3,4312	2,9182	3,1781
12. I.	6 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
13. I.		4,9135	3,2551	—	3,9460	4,0160	—	—	
16. I.	6 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
17. I.		—	—	2,6441	2,9682	3,3029	3,9199	2,7469	3,1804
20. I.	—	2,8968	2,8189	2,3815	2,8891	3,3656	3,4857	3,1423	2,4094
23. I.	6 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
24. I.	—	2,6895	2,6086	2,8142	2,6514	3,0664	3,9442	2,9141	3,4412
27. I.	6 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
28. I.	—	—		—		—	4,3387	2,9063	3,0721
5. II.	6 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
6. II.	—	2,5132	2,2014	2,5597	2,9444	2,3882	3,1898	2,7102	3,3021
15. II.	6 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
16. II.	—	2,8346	2,3698	2,1283	2,2395	2,9667	—	2,2327	2,6377
18. II.	15 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
21. II.	15 „ „	—	—	—	—	—	—		—
23. II.	15 „ „	—	—	—	—	—	—	—	—
27. II.	15 „ „	—	—	—	—	—	—	—	—
3. III.	15 „ „	—	—	—	—	—	—	—	—
6. III.	20 „ „	—	—	—	—	—	—	—	—
14. III.	20 „ „	—	—	—	—	—	—	—	—
17. III.	40 „ „	—	—	—	—	—	—	—	—
23. III.	60 „ „	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle 3 (Fortsetzung).

Datum	Behandlung	O_2 g/kg Stunde							
		9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	16.
28. III.	60 mg Thgl.	—	—	—	—	—	—	—	—
3. IV.	60 „ „	—	—	—	—	—	—	—	—
11. IV.	—	—	—	—	—	—	2,2858	2,3365	2,5617
18. IV.	—	2,9054	2,4850	2,4197	2,9406	2,9100	—	—	
26. IV.	—	2,3998	—	2,4856	—	—	—	—	—

Versuche an Meerschweinchen.

Diese Versuche wurden an 14 vollentwickelten männlichen Meerschweinchen durchgeführt (s. Tabelle 4).

Tabelle 4.

Datum	Meerschweinchen Nr. 2				
	Behandlung	Körpergewicht g	CO_2 g / kg Stunde	O_2 g / kg Stunde	R.Q.
29. XII.	—	680	1,4797	1,4124	0,772
31. XII.	—	655	1,4788	1,3908	0,783
3. I.	—	617	1,4508	1,3481	0,792
		Mittelwerte:	**1,4697**	**1,3837**	**0,782**
12. I.	15 mg Thgl. i. p.	—	—	—	—
13. I.	—	650	1,4300	**1,4161**	0,743
17. I.	15 mg Thgl. i. p.	—	—	—	—
18. I.	—	710	1,3473	**1,2651**	0,766
20. I.	15 mg Thgl. i. p.	—	—	—	—
21. I.	—	697	1,3790	**1,0699**	0,949
23. I.	15 mg Thgl. i. p.	—	—	—	—
24. I.	—	730	1,5304	**1,2830**	0,878
26. I.	—	755	1,1044	**0,9434**	0,862
27. I.	15 mg Thgl. i. p.	—	—	—	—
1. II.	„ „ „	—	—	—	—
2. II.	—	725	1,6844	**1,5502**	0,800
7. II.	15 mg Thgl. i. p.	—	—	—	—
8. II.	—	782	1,2084	**1,1095**	0,802
15. II.	15 mg Thgl. i. p.	—	—	—	—
16. II.	—	793	1,4924	**1,2501**	0,891
22. II.	—	780	1,3487	**1,2506**	0,794
14. III. vormittags	—	672	1,6173	**1,3831**	0,861
14. III. nachmittags	4 mg Thyroxin	—	—	—	—
15. III.	—	672	1,6346	**1,4297**	0,842
16. III.	—	674	1,6044	**1,2977**	0,910
17. III.	—	670	1,5054	**1,2380**	0,895
18. III.	—	673	1,6181	**1,2869**	0,926
20. III.	—	713	1,7952	**1,2494**	—
21. III.	—	688	1,4517	**1,2978**	0,813

Tabelle 4 (Fortsetzung).

Datum	Meerschweinchen Nr. 7 (Kontrolle)				
	Behandlung	Körpergewicht g	CO_2 g / kg Stunde	O_2 g / kg Stunde	R.Q.
23. II.	—	662	1,5961	**1,3662**	0,966
23. II. nachmittags	0,3 mg Thyroxin	—	—	—	—
24. II.	—	618	1,6761	**1,6378**	0,753
25. II.	—	618	1,5931	**1,6553**	0,709
14. III. vormittags	—	597	1,6499	**1,4753**	0,823
14. III. nachmittags	4 mg Thyroxin	—	—	—	—
15. III.	—	592	1,7852	**1,4394**	0,911
16. III.	—	602	1,8129	**1,4261**	0,936
17. III.	—	552	1,9347	**1,6708**	0,852
18. III.	—	536	2,1626	**1,9327**	0,816
19. III.	—	505	2,1699	**1,8191**	0,878
20. III.	—	507	2,1564	**1,7975**	0,883
21. III.	—	519	2,0583	**1,7535**	0,864

Aus Tabelle 4 geht hervor, daß Meerschweinchen auf wiederholte intraperitoneale Einführung des Thyreoglobulins ebenso reagieren, wie Ratten. Es ist auch hier zu beobachten, daß nach einer vorübergehenden Zunahme des O_2-Verbrauchs der Stoffwechselumsatz der behandelten Tiere stark herabgesetzt wurde, ferner, daß bei den vorbehandelten Versuchstieren auf 4 mg Thyroxin keine Stoffwechselsteigerung zu beobachten war, wogegen der O_2-Verbrauch der Kontrolltiere auf 0.3 mg Thyroxin um 25% auf 4 mg Thyroxin um etwa 30% erhöht wurde. Die kleinste noch wirksame Thyroxinmenge für die vorbehandelten Meerschweinchen scheint 5—10 mg zu sein.

Versuche an Kaninchen.

Die Versuche wurden an vier männlichen Kaninchen durchgeführt. Wie aber aus der Tabelle 5 ersichtlich ist, verhielten sich die mit Thyreoglobulin vorbehandelten Kaninchen ganz anders, wie vorbehandelte Ratten und Meerschweinchen.

Der O_2-Verbrauch der Kaninchen hat nämlich während der Thyreoglobulinbehandlung stark zugenommen und das nach der Behandlung eingeführte Thyroxin verursachte eine starke Steigerung des Stoffwechselumsatzes.

Es kann also auf Grund der vorgelegten Versuche festgestellt werden, daß mittels wiederholter parenteraler Einführung von Thyreoglobulin an Ratten und Meerschweinchen ein Zustand hervorgebracht werden kann, in dem diese Tiere eine stark herabgesetzte Empfindlichkeit gegen den

Tabelle 5.

Datum	Kaninchen Nr. 3				
	Behandlung	Körpergewicht g	CO_2 g / kg Stunde	O_2 g / kg Stunde	R.Q.
5. I.—10. I.	—	3,450	0,5532	**0,6102**	0,743
12. I.	30 mg Thgl. i. v.	—	—	—	—
17. I.	30 „ „ „	—	—	—	—
18. I.	—	3,530	0,5811	**1,0379**	—
20. I.	30 mg Thgl. i. v.	—	—	—	—
21. I.	—	3,561	0,6784	**1,0041**	
23. I.	30 mg Thgl. i. v.	—	—	—	—
24. I.	—	3,320	0,6009	**0,8766**	—
26. I.	—	3,510	0,7521	**0,8566**	0,746
27. I.	30 mg Thgl. i. v.	—	—	—	—
28. I.	—	3,350	0,7594	**1,0899**	—
1. II.	30 mg Thgl. i. v.	—	—	—	—
2. II.	—	3,455	0,9840	**1,3006**	—
8. II.	0,5 mg Thyroxin s.c.	—	—	—	—
9. II.	—	3,630	0,9639	**0,8822**	0,769
13. II.	—	3,350	0,7242	**1,1522**	
13. II.	1 mg Thyroxin s.c.	—	—	—	—
14. II.	—	3,230	1,0488	**1,3736**	0,762
15. II.	—	3,230	0,8603	**1,3562**	—
28. II.	90 mg Thgl. i. v.	—	—	—	—
6. III.	90 „ „ „	—	—	—	—
10. III.	90 „ „ „	—	—	—	—
14. III.	90 „ „ „	—	—	—	—
17. III.	90 „ „ „	—	—	—	—
29. III.	90 „ „ „	—	—	—	—
3. IV.	—	3,960	0,6927	**0,7273**	0,701
3. IV.	4 mg Thyroxin s.c.	—	—	—	—
4. IV.	—	3,874	0,8445	**1,3342**	—
5. IV.	—	3,548	0,8418	**1,4811**	—
6. IV.	—	3,530	0,9921	**1,5220**	—
8. IV.	—	3,156	0,8906	**1,6285**	—

Wirkungsstoff der Schilddrüse zeigen. Es fragt sich nun, was die Ursache dieser gesteigerten Thyroxintoleranz der Versuchstiere ist?

Wir haben von vornherein angenommen, daß das Thyreoglobulin in diesen Versuchen als Antigen in serologischem Sinne wirkte, so daß auf ihre parenterale Verabreichung gegen Thyreoglobulin und Thyroxin gerichtete Antikörper erzeugt wurden. Nachdem nämlich das Thyreoglobulin eine natürliche Eiweißverbindung des Thyroxins darstellt, schien die Annahme berechtigt zu sein, daß sich in diesen Versuchen das Thyreoglobulin als ein chemospezifisches Antigen verhielt, in dem Sinne, daß das Thyroxin neben dem Eiweißschlepper die Rolle der spezifischen Gruppe spielte, wodurch sie die Spezifizität der entstandenen Antikörper beeinflußt bzw. bestimmt hatte. Diese Annahme bildete auch den Ausgangspunkt unserer Versuche, welche wir zwecks Herstellung eines antigenwirkenden

Adrenalinderivats vor 2 Jahren unternommen haben; die Veröffentlichung dieser Versuche wird in einer nächsten Arbeit erfolgen. Unsere Annahme erhielt inzwischen in den Versuchen von Clutton, Harington und Yuill (10) eine starke Unterstützung. Die Untersuchungen der letztgenannten Autoren — wie schon erwähnt — haben darauf hingewiesen, daß in Immunisierungsversuchen mittels synthetisch hergestellten Thyroxyleiweißderivaten das Thyroxin sich haptenähnlich verhielt.

Wir versuchten die Existenz solcher antithyreoglobulin- und antithyroxinwirkenden Immunstoffe sowohl serologisch wie auch physiologisch nachzuweisen.

Wir haben zuerst mit dem Blutserum thyreoglobulinbehandelter Tiere (Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen) und mit dem Thyreoglobulinantigen Präzipitations- und Komplementbindungsreaktionen eingestellt; es wurde weiters das Verhalten der Versuchstiere auch in anaphylaktischen Versuchen beobachtet. — Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in der Tabelle 6 zusammengefaßt.

Tabelle 6.

	Präzipitation	Komplementbindung	Anaphylaxie
Ratte	—	+	—
Meerschweinchen	—	+	+
Kaninchen	—	—	+

Die Tabelle zeigt, daß das immunologische Verhalten der Sera keineswegs eindeutig war. So konnte man Präzipitine nie nachweisen, wogegen die Anwesenheit komplementbindender und anaphylaktischer Antikörper in der Mehrzahl der Fälle festzustellen war. Es ist also kaum zu bezweifeln, daß im Blute der Versuchstiere serologisch nachweisbare Thyreoglobulin-Antikörper entstanden; die Frage aber, ob letztere mit den thyroxinhemmenden Stoffen der Sera identisch sind oder nicht, bleibt vorläufig offen. Es ist jedenfalls zu bemerken, daß in Sera von Kaninchen — welche sich in den physiologischen Versuchen vollkommen negativ verhielten — weder Präzipitine, noch komplementbindende Antikörper nachweisbar waren; auch die Anwesenheit anaphylaktischer Antikörper wurde nur in zwei Fällen (von acht) beobachtet. Andererseits war aber auch das immunologische Verhalten von Rattensera nicht ganz eindeutig, obwohl diese Versuchstiere nach Thyreoglobulinbehandlung eine stark erhöhte Thyroxintoleranz zeigten.

Die Annahme, daß im Blute thyroxinbehandelter Tiere der thyroxinhemmende Faktor als präformierter „Antikörper" anwesend ist, wird aber nicht so sehr in den Ergebnissen der mitgeteilten serologischen Versuche ihre Bekräftigung finden, vielmehr aber in der Tatsache, daß dieser Faktor bei Ratten durch Sera mit Thyreoglobulin vorbehandelter Tiere auch auf Normaltiere übertragbar ist, d. h. daß bei Ratten durch eine mit Antithyreoglobulin-Immunserum durchgeführte passive Immunisierung die O_2-Verbrauch-steigernde Wirkung des eingespritzten Thyroxins aufgehoben wurde (s. Abb. 5, 6 und 7).

Ein Teil der mit Thyreoglobulin vorbehandelten Ratten wurde entblutet. Zu 1 bzw. 2 ccm der gewonnenen Sera wurde Thyroxin in verschiedenen Mengen (0,5, 1, 2 mg) zugefügt und die Thyroxin + Serum-Mischungen in normalen Ratten subcutan eingespritzt. Der O_2-Verbrauch der Tiere wurde nachher täglich bestimmt. Die Kontrollratten erhielten die entsprechenden Thyroxinmengen mit normalen Rattensera. Die Ergebnisse sind in Abb. 5, 6 und 7 dargestellt.

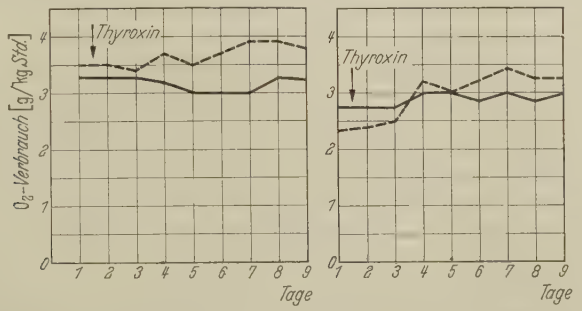


Abb. 5.
— — — 0,5 mg Thyroxin + 1 ccm normales Rattenserum subcutan.
——— 0,5 mg Thyroxin + 1 ccm Antithyreoglobulin-Serum subcutan.

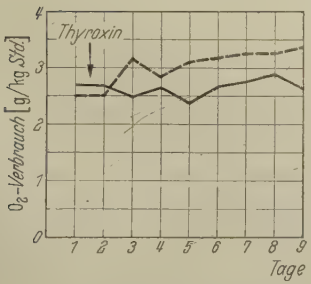


Abb. 6.
— — — 2 mg Thyroxin + 2 ccm normales Rattenserum subcutan.
——— 2 mg Thyroxin + 2 ccm Antithyreoglobulin-Serum subcutan.

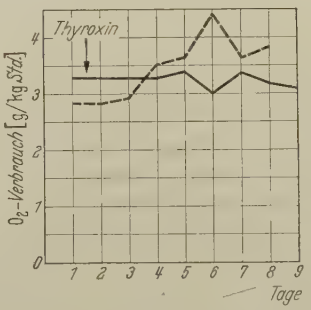


Abb. 7.
— — — 2 mg Thyroxin + 1 ccm normales Rattenserum subcutan.
——— 2 mg Thyroxin + 1 ccm Antithyreoglobulin-Serum subcutan.

Es wurde auf Grund dieser Untersuchungen geschlossen, daß durch parenterale Thyreoglobulinbehandlung von Ratten wirkliche Antihormone erzeugt werden können, welche — ähnlich wie die übrigen Immunkörper — auch im Blute der Versuchstiere in erheblichen Mengen auftreten.

Zusammenfassung.

Der O_2-Verbrauch von mit parenteralem Thyreoglobulin längere Zeit hindurch behandelten weißen Ratten wird stark herabgesetzt. Die Reaktionsbereitschaft solcher Tiere ist auch subcutan eingespritztem Thyroxin gegenüber vermindert, so daß der O_2-Verbrauch der Tiere nur auf Thyroxin-

gaben von über 15 mg eine deutliche Steigerung zeigt. Meerschweinchen verhielten sich ähnlich wie die Ratten. Bei Kaninchen zeigte sich dagegen im Verlaufe der Thyreoglobulinbehandlung eine deutliche Steigerung des Stoffwechsels, nach der Thyreoglobulinbehandlung wurde der O_2-Verbrauch dieser Tiere auf Thyroxineinspritzung entsprechend erhöht. Diese an Ratten und Meerschweinchen gemachte Beobachtung dürfte ihre Erklärung darin finden, daß in diesen Versuchen das Thyreoglobulin als Antigen in serologischem Sinne wirkte, so daß ihre parenterale Verabreichung die Entstehung von gegen Thyreoglobulin und Thyroxin gerichteten Antikörpern herbeigeführt hatte. — Es ist anzunehmen, daß in diesen Versuchen das Thyreoglobulin sich als ein chemospezifisches Antigen verhielt, in dem Sinne, daß das Thyroxin neben dem Eiweißschlepper die Rolle der spezifischen Gruppe spielte, wodurch sie die Spezifizität der entstandenen Antikörper beeinflußt bzw. bestimmt hatte. Diese Deutung wird nicht so sehr in den Ergebnissen der mitgeteilten serologischen Versuche ihre Bekräftigung finden, vielmehr aber in der Tatsache, daß der thyroxinhemmende Faktor bei Ratten durch Sera mit thyreoglobulinvorbehandelter Tiere auch auf Normaltiere übertragbar ist, d. h. bei Ratten durch eine mit Antithyreoglobulin-Immunserum durchgeführte passive Immunisierung die O_2-Verbrauch-steigernde Wirkung des eingespritzten Thyroxins aufgehoben wurde.

Literatur.

1) Hektoen, L., u. K. Schulhof: J. amer. med. Assoc. **80**, 386 (1923). — 2) Hektoen, L., H. Fox u. K. Schulhof: J. infect. Dis. (Am.) **40**, 641 (1927). — 3) Schulhof, K.: Amer. J. Physiol. **93**, 175 (1930). — 4) Rosen, S. H., u. D. Marine: Ebenda **120**, 121 (1937). — 5) Kestner, O.: J. Physiology (Proc. Phys. Soc.) **90**, 187 (1937). — 6) Bauer, J.: Wien. Klin. Wschr. **1937**, I, 83. — 7) Bauer, J.: J. amer. med. Assoc. **109**, 1442 (1937). — 8) Clutton, R. F., C. R. Harington u. T. H. Mead: Biochem. J. **31**, 764 (1937). — 9) Clutton, R. F., C. R. Harington u. M. E. Yuill: Ebenda **32**, 1111 (1938). — 10) Clutton, R. F., C. R. Harington u. M. E. Yuill: Ebenda **32**, 1119 (1938).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Albertus-Universität Königsberg (Pr.).
(Direktor: Prof. Dr. K. Zipf.)

Die Wirkung des Veritols auf die zirkulierende Plasmamenge des normalen und kollabierten Hundes.

Von

J. Zachowski und **G. Ehnimb.**

(Eingegangen am 18. Juli 1939.)

Der normale und geschädigte Kreislauf der Katze und des Hundes erfahren durch Veritol eine langanhaltende Förderung durch Vermehrung des Blutangebotes an das Herz, Verbesserung der Herzleistung und Erhöhung des Tonus in venösen und arteriellen Gefäßabschnitten[1, 2, 3, 4]. Der vermehrte Rückfluß des Blutes zum Herzen findet seine Erklärung in einer Engerstellung der venösen Strombahn[1, 5] und in einer kräftigen Entleerung von Blutspeichern. An letzterer ist vor allem die Milz beteiligt, welche durch Veritol eine makroskopisch und onkographisch nachweisbare starke Volumverkleinerung erfährt[1, 4, 6, 7]. Nach Untersuchungen von Zipf[4] stammt die Hauptmenge des dem Kreislauf zuströmenden Depotblutes bei der Katze aus der Milz und dem Hautmuskelgebiet, während Leber und Darm nur wenig oder nicht daran mitwirken. Auf eine gewisse Beteiligung der Leber beim Hund deuten allerdings die Ergebnisse von Rein[1] und Schneider[8] hin, welche unter Veritoleinfluß eine leichte Kontraktion der Leber beobachten. Die Mobilisierung größerer Mengen von Depotblut muß zwangsläufig zu Vermehrung der zirkulierenden Blutmenge führen. Beim Menschen konnte Schöndorf[9] mit der Kongorotmethode eine solche Steigerung feststellen. Mit der Trypanrotmethode wies Dieckhoff[10] bei Kindern, deren Kreislauf durch toxische Dyphtherie geschädigt, und die zirkulierende Blutmenge auf ungefähr 50% gegenüber der Norm vermindert war, ebenfalls eine deutliche Steigerung nach Veritolinjektion nach. Auch tierexperimentell konnte er dieselben Ergebnisse beim Kaninchen erheben. Für das Tier wurde bisher von den meisten anderen Autoren nur aus der Art der Kreislaufvorgänge auf eine Vermehrung der zirkulierenden Blutmenge geschlossen.

---

[1] Rein, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 617 (1937). — [2] Biehler, W.: Z. exper. Med. **101**, 62 (1937). — [3] Mügge, H.: Klin. Wschr. **16**, 1241 (1937). — [4] Zipf, K.: ebenda **16**, 1340 (1937); Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 679 (1938). — [5] Tischendorf, F.: Z. mikrosk. anat. Forsch. **43**, 153 (1938). — [6] Heymans, C.: Arch. internat. Pharmacodynam. **56**, 319 (1937). — [7] Colombi, C.: Minerva med. (It.) **1938**, S. 595. — [8] Schneider, D.: Klin. Wschr. **1937**, S. 736. — [9] Schöndorf, Th.: Münch. med. Wschr. **1938**, S. 333. — [10] Dieckhoff, J.: Klin. Wschr. **1937**, S. 1154.

Methodik.

Die als Versuchstiere verwendeten Hunde verschiedener Rasse mittleren Gewichts wurden teils mit Evipan teils mit Numal narkotisiert. Das Verhalten des Kreislaufs wurde durch Registrierung des Carotisdrucks kontrolliert. Die Schädigungen des Kreislaufs bestanden in Erzeugung von Kollapszuständen durch intravenöse Injektion von Witte-Pepton oder subocipitale Novocaininjektion nach Trendelenburg. Veritol wurde in geeigneter Dosierung jeweils intravenös injiziert. Die Veränderungen der zirkulierenden Blutmenge wurden durch Bestimmung des zirkulierenden Plasmavolumens mit Hilfe der Kongorotmethode bestimmt. Im allgemeinen wurde nach der Methode von Heilmeyer [11] verfahren. Die Injektion von Kongorot erfolgte, ebenso wie die des Veritols, zur Vermeidung zirkulatorischer Störungen von einem Seitenast der V. femoralis aus. Die Blutentnahme geschah aus den gleichen Gründen aus einem Seitenast der Art. femoralis, durch den eine Kanüle in das Hauptgefäß vorgeschoben wurde. Das entnommene Blut wurde, um auch die geringste Hämolyse zu vermeiden, nicht defibriniert, sondern durch Zusatz von Natriumoxalat ungerinnbar gemacht. Zu den bei jeder Blutentnahme gewonnenen 5 ccm Blut wurden 0,2 ccm einer 2%igen Natriumoxalatlösung zugefügt, so daß im Blut stets 0,1% Natriumoxalat enthalten waren. Die Kongorotinjektion wurde in der üblichen Weise immer genau 3 Minuten vor einer Blutentnahme vorgenommen. Zur Bestimmung der Kongorot-Konzentration im Plasma wurde ein Pulfrichphotometer benutzt.

Ergebnisse.

Als normale zirkulierende Plasmamenge wurde bei 12 Hunden ein Durchschnittswert von 54,9 ccm pro kg Körpergewicht gefunden. Die einzelnen Werte sind, wie aus Tab. 1 hervorgeht, individuellen Schwankungen unterworfen und bewegen sich zwischen 40,7 und 65,9 ccm pro kg. Der gefundene Mittelwert liegt nur wenig höher als die von Mezey und Staub [12] mit 50,6 ccm und von Brown und Keith [13] mit 52,5 ccm pro kg ebenfalls mit der Kongorotmethode gefundenen Zahlen.

Tabelle 1.

Nr.	Gewicht in kg	Plasmamenge in ccm	ccm/kg	Nr.	Gewicht in kg	Plasmamenge in ccm	ccm/kg
1	26,0	1479	57,6	7	27,0	1587	58,8
2	22,0	896	40,7	8	25,0	1337	53,5
3	24,0	1381	57,5	9	25,7	1633	63,5
4	25,3	1667	65,9	10	28,0	1408	50,3
5	25,1	1422	56,7	11	14,7	939	63,9
6	21,5	833	38,8	12	17,4	866	49,8

Nach intravenöser Injektion von 0,05—0,1 mg Veritol pro kg Körpergewicht stieg bei normalen Hunden als Folge der dadurch ausgelösten Kreislaufvorgänge regelmäßig der arterielle Blutdruck an. Die zirkulierende Plasmamenge zeigte nach 3 Minuten kein einheitliches Verhalten.

[11] Heilmeyer, L.: Biochem. Z. **212**, 430 (1929). — [12] Mezey, K., u. H. Staub: Schweiz. med. Wschr. **1937**, S. 445. — [13] Brown, E., u. E. Keith: zit. nach Mezey, K., u. H. Staub: Ebenda **1937**, S. 445.

Tabelle 2. Versuche am normalen Hund.

Nr.	Art der Narkose	Normale Plasmamenge in ccm I	Veritol in mg/kg	Plasmamenge nach Veritol nach 3 Min. II	6 Min. III	30 Min. IV	Prozentuelle Änderungen der Plasmamenge I : II	I : III	I : IV
1	Numal	833	0,10	—	885	774	—	+ 6,3	— 7,6
2	Evipan-natrium	1422	0,10	1458	1524	1453	+ 2,5	+ 7,2	+ 2,2
3		1667	0,10	1667	2032	1582	0	+ 21,9	— 5,4
4		896	0,05	791	1196	897	— 13,3	+ 33,5	0
5		1381	0,05	1420	1384	1285	+ 2,8	0	— 7,5

In 2 von 4 Versuchen trat eine leichte Zunahme und in je einem Falle eine Abnahme von 13,3 % bzw. keine Veränderung ein. Nach 6 Minuten kam es in 4 von 5 Versuchen dagegen zu einer eindeutigen Zunahme der zirkulierenden Plasmamenge um 6,3—33,5 %. Nur in einem Falle konnte nach 6 Minuten keine Veränderung erfaßt werden. Nach 30 Minuten war in allen Versuchen die Veritolwirkung abgeklungen. Aus den gewonnenen Befunden kann demnach geschlossen werden, daß Veritol bereits am kreislaufintakten Hund die zirkulierende Plasmamenge vermehrt. Die beobachtete Latenzzeit steht mit den Feststellungen von Rein[1] im Einklang, daß beim Hund die Mobilisierung von Depotblut unter Veritoleinfluß zeitlich am spätesten erfolgt.

Wesentlich eindrucksvoller verliefen die Veränderungen der zirkulierenden Plasmamenge bei Tieren im Kreislaufkollaps.

Nach intravenöser Injektion von 0,1 g in physiologischer Kochsalzlösung gelöstem Witte-Pepton pro kg Körpergewicht entwickelte sich ein protoplasmatischer Kollaps, der neben den rein hämodynamischen Störungen charakterisiert ist durch Bluteindickung infolge Austritts von Plasma ins Gewebe. Der Blutdruck sank rasch und anhaltend auf etwa 30 mm Hg ab, die Herztätigkeit zeigte starke Irregularitäten. Als Zeichen der Bluteindickung stieg die Erythrocytenzahl an. Die zirkulierende Plasmamenge nahm, wie Tabelle 3 zeigt, um 34—66 % ab. Die gefundene

Tabelle 3. Versuche am kollabierten Hund.

Nr.	Art der Narkose	Normale Plasmamenge in ccm I	Plasmamenge im Schock II	Veritol in mg/kg	Plasmamenge in ccm nach 3 Min. III	6 Min. IV	30 Min. V	Prozentuelle Änderungen der Plasmamenge I : II	II : III	II : IV	II : V
					I. Wittepepton.						
1	Evipan-natrium	1337	804	0,2	1235	1285	1085	— 66,3	+ 53,6	+ 59,8	+ 34,9
2		1633	1159	0,2	1476	1544	1254	— 40,9	+ 27,4	+ 33,2	+ 8,2
3	Numal	1072	800	0,2	1028	1130	881	— 34,0	+ 28,3	+ 41,3	+ 10,3
					II. Novokain (5 ccm einer 10 %igen Lösung).						
1	Numal	939	877	0,2	935	1010	866	— 7,1	+ 6,6	+ 15,2	— 1,3
2		866	733	0,2	966	1081	881	— 18,1	+ 31,8	+ 47,5	+ 20,2
3		813	665	0,2	769	948	—	— 22,3	+ 15,6	+ 42,6	—

Abnahme deckt sich mit den Angaben der Literatur. Nach Eppinger[14] sinkt im Peptonschock die zirkulierende Blutmenge weit unter die Hälfte ab, während Mezey und Staub[12] 10—12 Minuten nach der Peptoninjektion eine Abnahme von durchschnittlich 20% feststellen. Intravenöse Injektion von 0,2 mg Veritol pro kg bewirkte starke Vermehrung der zirkulierenden Plasmamenge. Bereits nach 3 Minuten war der Normalwert nahezu wieder erreicht. Nach 6 Minuten war eine weitere Zunahme eingetreten, wobei in einem Falle der Wert vor dem Kollaps sogar überschritten wurde. Nach 30 Minuten klang die Wirkung wieder ab, die zirkulierende Plasmamenge verminderte sich wieder. Der Blutdruck stieg nach Veritolinjektion langsam und stetig an und erreichte nach 10 Minuten nahezu seinen Normalwert vor der Peptoninjektion. Die Störungen der Herztätigkeit verschwanden unter Veritoleinfluß. Trotz Zunahme der zirkulierenden Plasmamenge kehrte die Zahl der Erytrocyten nicht zum Normalwert zurück, sondern zeigte nach 6 Minuten sogar eine leichte Zunahme. Aus diesem Verhalten kann geschlossen werden, daß Veritol im protoplasmatischen Kollaps zunächst nur die hämodynamischen Ursachen beseitigt, während die Permeabilitätsstörung unbeeinflußt bleibt. Durch Mobilisierung von eingedicktem Blut aus den Blutspeichern nimmt die zirkulierende Plasmamenge zu, während die Erytrocytenzahl entweder unverändert bleibt oder sogar noch ansteigt. In ähnlicher Weise nimmt beim Kollaps nach großen Histamingaben im Stadium der Scheinerholung die Bluteindickung nicht ab[15]. Die Spontanerholung wird im Peptonschock wie im Histaminkollaps[15] auf dem Wege über die Erregung sympatischer Zentren eingeleitet durch Beseitigung der hämodynamischen Störungen. Erst sekundär schwinden auch die protoplasmatische Endothelstörung und damit der Plasmaaustritt ins Gewebe. Veritol wirkt in ähnlicher Weise. Als sympathicomimetrischen Wirkstoff leitet es im protoplasmatischen Schock die Erholung noch ein, wenn die Regulationsmechanismen des Organismus versagen. Auch hier folgt auf die hämodynamische Wiederherstellung des Kreislaufs die Behebung der protoplasmatischen Störung. In diesem Sinne sind vielleicht die Schlußfolgerungen von Preissecker[16] aufzufassen, daß Veritol die Gefäßwandungen für den Durchtritt von Plasma ins Gewebe undurchlässiger macht.

Die suboccipitale Injektion von Novokain führt durch Ausschaltung der bulbären und medullären Gefäßzentren zum zentralnervösen Kollaps. Dieser stellt eine rein hämolytische Störung ohne Plasmaübertritt ins Gewebe dar.

In unseren Versuchen sank der arterielle Blutdruck kurze Zeit nach der Novokaininjektion stark ab und hielt sich auf konstantem Niveau. Die zirkulierende Plasmamenge nahm um rund 7—22% ab. Bluteindickung

[14] Eppinger, H.: Die seröse Entzündung. Berlin 1935. — [15] Gollwitzer-Meier, Kl.: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. **1938**, S. 15. — [16] Preissecker, E.: Zbl. Gynäk. **1938**, S. 1445.

trat nicht ein; die Erytrocytenwerte waren in und vor dem Kollaps praktisch dieselben. Nach intravenöser Injektion von 0,2—0,5 mg Veritol pro kg Körpergewicht stieg der Blutdruck innerhalb weniger Sekunden steil und meist weit über den Normalwert an. Die Blutdrucksteigerungen bewegten sich je nach Höhe der Veritoldosis 90—190 mm Hg über dem Kollapswert und 30—130 mm Hg über dem Normalblutdruck. Die pressorische Wirkung des Veritols hielt etwa 45—60 Minuten an. Die zirkulierende Plasmamenge stieg bereits nach 3 Minuten um etwa 7—32 % an und erreichte oder überschritt damit den Normalwert. Während der Blutdruck schon nach 3—4 Minuten sein Maximum erreichte, nahm die zirkulierende Plasmamenge in den folgenden Minuten noch weiter zu. Nach 6 Minuten betrug die Vermehrung 15—48 %. Die Rückkehr zum Normalwert trat etwa innerhalb von 30 Minuten ein. In einem Fall bestand nach dieser Zeit noch eine Vermehrung von etwa 20%. Damit ist auch für den hämodynamischen Kollaps der Nachweis erbracht daß Veritol die zirkulierende Blutmenge vermehrt.

Zusammenfassung.

1. Am narkotisierten Hund mit normalem Kreislauf steigert intravenöse Injektion von Veritol in Dosen von 0,05—0,1 mg pro kg Körpergewicht in der Regel die zirkulierende Plasmamenge.

2. Im protoplasmatischen Kollaps durch Pepton wird durch Veritol die verminderte Plasmamenge bis zum Normalwert zurückgeführt.

3. Im zentralnervösen Kollaps durch suboccipitale Novokaininjektion wird unter Veritoleinfluß die verminderte zirkulierende Plasmamenge über den Normalwert hinaus gesteigert.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Albertus-Universität, Königsberg i. Pr.
(Direktor: Prof. Dr. K. Zipf.)

Über die Wirkung von Cardiazol bei enteraler und perlingualer Zufuhr.

Von

H. Kuschel.

(Eingegangen am 30. Juni 1939.)

Nach tierexperimentellen Untersuchungen wird Cardiazol aus dem Unterhautzellgewebe und aus dem Magendarmkanal schnell resorbiert. Zwischen intravenöser, subcutaner und peroraler Krampfdosis besteht daher nur ein relativ geringer Unterschied. Je nach Tierart beträgt bei peroraler Zufuhr die zentralerregende und krampfmachende Dosis nur das zwei-, dreieinhalb- und vierfache der subcutan wirksamen Menge [1, 2, 3] Der Eintritt der Wirkung erfolgt bei peroraler Verabreichung fast ebenso rasch — innerhalb 10 Minuten — wie bei subcutaner und intravenöser Injektion. Während aber die Wirkung bei letzterem Zufuhrweg nur etwa 10—20 Minuten anhält, beträgt die Wirkungsdauer bei enteraler Zufuhr etwa 30—60 Minuten. Im Magen-Darmkanal wird Cardiazol bereits von der Magenschleimhaut resorbiert [1, 3].

Auf Grund dieser Befunde war anzunehmen, daß Cardiazol auch bei Resorption durch die Mundschleimhaut rasch zur Wirkung gelangt. Der Nachweis hierfür konnte mit der Methode der funktionellen Entgiftung von Evipan-Natrium an der Katze [4] erbracht werden. Zum Vergleich dienten dabei Versuche mit enteraler Cardiazolzufuhr.

Bei Durchführung der Versuche wurden Katzen von mittlerem Gewicht (2500—3500 g) mit einer bestimmten Vordosis von „Numal-Roche" — 0,6 ccm pro kg intraperitoneal — narkotisiert und zum Blutdruckversuch vorbereitet. Genau 60 Minuten nach der Numalinjektion begann die intravenöse Dauerinfusion einer 2 %igen Evipan-Natrium-Lösung, welche mit gleichbleibender Geschwindigkeit von 100 mg pro kg und Stunde bis zum Eintritt des Herzstillstandes fortgesetzt wurde. Die Feststellung des Herzstillstandes erfolgte durch Registrierung des Carotisdruckes. Bei den Versuchen über die perlinguale Resorption wurde die in wenig Aqua dest. gelöste Cardiazolmenge in die Mundhöhle gegeben, nachdem der Kopf des Tieres so gelagert war, daß ein Herausfließen der Lösung nicht möglich war. Um ein Verschlucken der Lösung oder ein Hinabfließen in die Trachea zu verhindern, wurde der Oesophagus in Höhe des Kehlkopfes unterbunden und die Luftröhre nach Einbinden einer Trachealkanüle durchtrennt und abgeklemmt. Bei enteraler Verabreichung erfolgte die Cardiazolzufuhr nicht mittels einer Schlundsonde, sondern durch Injektion in den freigelegten und an der Cardia abgebundenen Magen. — In allen Versuchen erhielten die Versuchstiere 300 mg Cardiazol pro kg Körpergewicht in drei Portionen, wobei die erste gleich zu Beginn des Versuchs, die beiden anderen in Intervallen von je 30 Minuten zugeführt wurden.

[1] Schoen, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **113**, 257 (1926). — [2] Hildebrandt, F.: Ebenda **116**, 100 (1926). — [3] Voss, J.: Ebenda **118**, 259 (1926). — [4] Zipf, K.: Ebenda **185**, 113 (1937).

In einer Reihe von Vorversuchen wurde zunächst noch einmal die tödliche Evipan-Natriumdosis ohne Zusatz von Cardiazol ermittelt. In Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Zipf[4] wurden dafür 150 mg pro kg Körpergewicht gefunden.

Bei perlingualer Zufuhr von Cardiazol trat eine starke funktionelle Entgiftung des Evipans ein. Statt 150 mg waren nunmehr 273,1—340 mg, im Mittel 290,7 mg pro kg Tier bis zum Eintritt des Herzstillstandes erforderlich. Die Verträglichkeit des Evipans wurde demnach durchschnittlich um 93,8% (82,1—126,6%) erhöht.

Die Zufuhr des Cardiazols in den Magen führte zu ähnlichen Ergebnissen. Die mittlere tödliche Evipanmenge von 150 mg nahm auf 265,8 mg pro Tier, also um durchschnittlich 77,1% zu.

Funktionelle Entgiftung von Evipan-Natrium durch Cardiazol

bei Resorption vom Magen-Darmkanal aus		bei perlingualer Resorption	
mg/kg	Zunahme in %	mg/kg	Zunahme in %
306,4	+ 104	273,1	+ 82,1
241,4	+ 60,9	340,0	+ 126,6
258,8	+ 72,5	273,7	+ 82,46
256,6	+ 71,1	276,0	+ 84,0
265,8	+ 77,1	290,7	+ 93,8

Der Vergleich der Cardiazolwirksamkeit bei perlingualer und bei enteraler Verabreichung zeigt, daß beide sich in derselben Größenordnung bewegen. Bei perlingualer Zufuhr fällt die Cardiazolwirkung sogar stärker aus als bei enteraler Applikation, im Durchschnitt um 16,7%. Das deutet darauf hin, daß Cardiazol von der Mundschleimhaut schneller resorbiert wird als von der Magenschleimhaut. Diese Feststellung steht in Einklang mit der Erfahrung, daß z. B. Nikotin oder Nitroglycerin von der Mundschleimhaut aus über die Vena cava superior innerhalb weniger Minuten in den Kreislauf gelangen. Die langsamere Resorption bei enteraler Zufuhr mag zum Teil darauf beruhen, daß die Leber einen Teil des Cardiazols vorübergehend festhält.

Bei intravenöser Dauerinfusion von 150 mg Cardiazol pro kg findet nach den Untersuchungen von Zipf[4] eine funktionelle Entgiftung des Evipans um 103% statt. Die doppelte Cardiazolmenge (300 mg/kg) führte nach den mitgeteilten Versuchen bei fraktionierter perlingualer und enteraler Zufuhr zu einer Entgiftung von 93,8 bzw. 77,1%. Es gelingt demnach bei geeigneter Dosierung durch perlinguale oder enterale Cardiazolzufuhr eine ähnliche Wirkung zu erzielen wie durch intravenöse Dauerinfusion.

Zusammenfassung.

1. Mit der Methode der funktionellen Entgiftung von Evipan-Natrium an der Katze wird gezeigt, daß Cardiazol bei perlingualer und enteraler Zufuhr rasch resorbiert wird.

2. Cardiazol wird von der Mundschleimhaut schneller resorbiert als von der Magen-Darmschleimhaut.

3. Fraktionierte perlinguale oder enterale Cardiazolzufuhr wirkt bei geeigneter Dosierung ähnlich wie eine intravenöse Dauerinfusion von Cardiazol.

Aus der II. Medizinischen Universitäts-Klinik der Charité in Berlin.
(Direktor: Prof. Dr. G. von Bergmann.)

Über den Einfluß toxischer Chinindosen auf den Kohlehydratstoffwechsel des Kaninchens.

Von

Edo von Wicht.

(Eingegangen am 24. Juli 1939.)

Bei dem Einfluß des Chinins auf die krankhaft erhöhte Körpertemperatur scheint der direkte periphere Angriff auf die Stoffwechselstätten eine wichtige Rolle zu spielen. Man nimmt nämlich an (28), daß Chinin auch unabhängig von seiner Wirkung auf die zentrale Wärmeregulation die Verbrennungen in der Peripherie unmittelbar herabsetzt und glaubt, das es sich hier um die Folge einer Dämpfung der Atmungsfermente im Gewebe handelt — um einen Einfluß also, den Chinin auch auf viele andere Fermente hat. Von dieser Vorstellung ausgehend gibt man ja schon lange und mit Erfolg Chinin nicht nur im Fieber, sondern auch bei nichtfieberhaften Steigerungen der Verbrennung, z. B. beim Morbus Basedow.

Sämtliche Gifte, die die Gewebsatmung herabsetzen, haben aber — soweit sie bisher in dieser Richtung untersucht worden sind — einen erheblichen Einfluß auf das Geschehen im intermediären Stoffwechsel. So führt z. B. Urethan, CO, NaCN und Acetonitril zu dem Symptomenkomplex des Glykogenzerfalls, wie Brentano nachgewiesen hat (27, 3, 4, 5). Es kommt dabei zu schweren Störungen im Kohlehydratstoffwechsel mit Verminderung des Muskel-, weniger des Leberglykogens (27, 3, 4), zu einer Erschwerung der Zuckerverbrennung und Umstellung auf Fettverbrennung (6, 24), gleichzeitig zu einer Herabsetzung der Fähigkeit der Muskulatur, aus Traubenzucker Glykogen zu bilden (7), zu Störungen im Milchsäurestoffwechsel (8, 13) und zu einer Kreatinvermehrung in der Muskulatur mit Kreatinurie (27, 3). Ist aber die Vorstellung richtig, daß Chinin eine Oxydationshemmung im Gewebe hervorruft, so läßt sich erwarten, daß es im intermediären Stoffwechsel ähnliche Erscheinungen auslöst wie die eben genannten Oxydationsgifte.

Versucht man, sich aus der vorhandenen Literatur über den Einfluß des Chinins auf den Stoffwechsel zu unterrichten, so ist das Resultat solcher Bemühungen sehr dürftig. Etwas genauer untersucht ist lediglich der Eiweißstoffwechsel (28), der durch Chinin deutlich herabgesetzt wird. Das Verhalten des Kohlehydrat- und Fettstoffwechsels ist fast unerforscht. Man weiß nur, daß Chinin eine erhebliche Blutzuckersteigerung beim Tier macht (30), die bis zu Glykosurie führt. Auch Fujino (15) und Kuno (21) sahen nach Chinin eine Hyperglykämie.

Küng (20) bestätigte diesen Befund und konnte ihn durch die Beobachtung erweitern, daß es nach Chinin auch zu einer stärkeren Ausscheidung von Milchsäure im Urin kommt. Diese Angaben stehen aber in Widerspruch zu Untersuchungen von Kagawa (19), der an der ausgeschnittenen Krötenleber bei Durchblutung mit Chininzusatz eine gesteigerte Zuckerabgabe aus der Leberzelle vermißte und dementsprechend auch einen Glykogenabbau nicht fand. Ja, er sah sogar eine Hemmung der Adrenalinwirkung bei Anwendung von Chinin in bestimmten Konzentrationen. Nur bei größerer Verdünnung beförderte Chinin die zuckermobilisierende Adrenalinwirkung.

Dieses Schicksal weitgehenden Unbekanntseins seiner Stoffwechselwirkung teilt das Chinin leider mit zahlreichen anderen vielgebrauchten Heilmitteln — eine Tatsache, die um so bedauerlicher ist, als das volle Verständnis für das Zustandekommen des therapeutischen Effekts sicherlich eng gebunden ist an die Kenntnis des chemischen Eingriffs dieser Stoffe im intermediären Stoffwechsel. Zur Erweiterung dieser Kenntnis sollen die nachfolgenden Untersuchungen einen Beitrag liefern.

Eigene Untersuchungen.

Folgende Chininlösungen wurden von uns benutzt:

a) Chininum hydrochloricum 25%, gelöst mit Hilfe von 18,75 g Urethan in 100 ccm Wasser. Von dieser Lösung kamen wir bald ab, da ja Urethan allein schon einen Glykogenzerfall hervorruft (27). Dieser macht es unmöglich, bei der Beurteilung der jeweils eintretenden Stoffwechselveränderung zu trennen, wieweit sie vom Chinin und wieweit sie vom Urethan ausgelöst sind.

b) Chininlösung „Bayer", eine 25%ige wässerige Lösung von salzsaurem Chinin, das mit Hilfe von Sarkosinanhydrid in Lösung gebracht ist. 100 ccm dieser Lösung enthalten 37,5 g Sarkosinanhydrid. Die getrennte Untersuchung von Sarkosinanhydrid allein ergab, daß diese Substanz in bezug auf den Stoffwechsel offenbar völlig indifferent ist.

c) Chinin-Gluconat, die Gluconsäureverbindung des Chinins, wie sie von der Firma Sandoz in den Handel gebracht wird. Verwendet wurde eine 10%ige wässerige Lösung.

d) Schließlich stellten wir uns eine Chininum hydrochloricum-Lösung her mit Hilfe von Salzsäure nach folgendem Rezept: Chinin hydrochloricum 10,0, Acidi hydrochlor. 2,5, Aqua dest. ad 100,0. Während die Lösungen a) bis c) subcutan indiziert wurden, wurde die Lösung d) nur peroral verabfolgt.

I. Letale Dosis des Chinins.

Wir arbeiteten bewußt mit hohen Chinindosen. Wird doch der pharmakologische Effekt eines Mittels sehr oft eher verständlich, wenn seine toxischen Wirkungen bekannt sind. Um die für die beabsichtigten toxischen Wirkungen notwendigen Dosen kennenzulernen, stellten wir zunächst die kleinste tödliche Dosis fest.

Tabelle 1.

Zusammenstellung der Höchstdosen des Chinins bei subcutaner (Chinin-Urethan) und peroraler Darreichung (Chinin. hydrochlor.).

Datum	Tier Nr.	Gewicht kg	Art und Menge der Applikation	Wirkung
13. IX. 1935	15	3,12	0,5 g/kg, subcutan	Keine Erscheinungen
20. IV. 1936	29	2,4	0,5 g/kg, durch Schlundsonde	„ „
5. V. 1936	29	2,70	0,5 g/kg, „ „	„ „
26. III. 1936	28	2,30	0,5 g/kg, „ „	„ „
31. III. 1936	28	2,20	0,5 g/kg, „ „	„ „
14. IX. 1935	15	3,12	1,0 g/kg, subcutan	Am nächsten Tage tot!
24. IX. 1935	16	2,87	0,75 g/kg, subcutan	Am nächsten Tage tot!
28. II. 1936	19	2,90	1,0 g/kg durch Schlundsonde	Nach 45 Min. tot!
28. II. 1936	20	2,12	0,75 g/kg, durch Schlundsonde	Nach 45 Min. Erschlaffungserscheinungen, am nächsten Tage tot!

Das Ergebnis dieser Versuche ist in Tabelle 1 zusammengestellt: Es zeigt sich, daß 0,5 g/kg Chinin in einmaliger Dosis in keinem Falle beim Kaninchen tödlich wirkt. 0,75 g/kg führt jedoch innerhalb der nächsten 24 Stunden zum Tode. Zwischen peroraler und subcutaner Verabfolgung des Chinins scheint in bezug auf seine tödliche Wirkung in der Dosis kein Unterschied zu bestehen.

Es ließ sich somit die bisher in der Literatur vertretene Auffassung nicht bestätigen, wonach schon 0,231 g/kg Chinin subcutan die kleinste tödliche Dosis sei (2). Vielmehr lag diese Grenze in unseren Versuchen etwa dreimal so hoch. Wenn R. Hunt (18) und Schröder (29) auf das ganze Tier bezogen 0,8 g Chinin als kleinste tödliche Dosis angeben, so läßt sich dazu schwer Stellung nehmen, da das Körpergewicht der Tiere nicht genannt wird.

II. Kreatinurie nach Chinin.

Die Kreatinbestimmungen wurden nach der Methode von Folin im Authenriethschen Kolorimeter vorgenommen in gleicher Weise, wie es schon seit Jahren an unserer Klinik üblich ist (27). Zur Untersuchung dienten mindestens 2 kg schwere weibliche Kaninchen, die in Stoffwechselkäfigen untergebracht waren. Sie wurden mit Hafer, Heu, Rüben und gekochten Kartoffeln ernährt.

Alle Gifte, die die Gewebsatmung hemmen, bewirken eine Kreatinurie, wie oben schon gesagt wurde. Also müssen wir erwarten, daß auch Chinin eine Kreatinurie hervorruft. In der Tat kommt es bei Verabfolgung von 0,25 g/kg Chininum hydrochloricum regelmäßig zu erheblicher Kreatinausscheidung im Harn, wie Tabelle 2 zeigt. Es ist dabei ganz einerlei, ob das Chinin mit Urethan oder Sarkosinanhydrid gelöst ist, ob es subcutan injiziert oder ob es in salzsaurer Lösung peroral verabfolgt wird.

Tabelle 2. Wirkung des Chinins auf Stärke und Dauer der Kreatinausscheidung (unter Berücksichtigung der Applikationsart).

Datum	Tier Nr.	Gewicht kg	Höhe der Dosis	Harnkreatin in mg
		a) Chinin-Urethan, subcutan.		
29. VII. 1935	13	2,65	0,125 g/kg	0
30. VII. 1935				0
31. VII. 1935				0
1. VIII. 1935			0,25 g/kg	0
2. VIII. 1935				18,75
3. VIII. 1935				32,50
8. VIII. 1935	14	2,74	0,25 g/kg	0
9. VIII. 1935			0,25 g/kg, nüchtern gesetzt	20,75
10. VIII. 1935		2,55	0,25 g/kg, Futter	81,25
12. VIII. 1935				181,25
		b) Chininum hydrochloricum, durch Schlundsonde.		
26. III. 1936	21	3,0	0,25 g/kg	0
27. III. 1936			0,25 g/kg	1,25
28. III. 1936			0,25 g/kg	47,5
29. III. 1936			0,25 g/kg	25,0
30. III. 1936				32,5
26. III. 1936	22	2,80	0,25 g/kg	0
27. III. 1936			0,25 g/kg	20,0
28. III. 1936			0,25 g/kg	23,75
29. III. 1936			0,25 g kg	32,5
30. III. 1936				73,75
24. III. 1936	23	2,47	0,25 g\kg	0
25. III. 1936			0,25 g/kg, nüchtern gesetzt	27,5
26. III. 1936			0,25 g/kg, Futter	53,75
27. III. 1936				61,25
28. III. 1936				28,75
24. III. 1936	24	2,70	0,25 g/kg	0
25. III. 1936			0,25 g/kg, nüchtern gesetzt	21,25
26. III. 1936			0,25 g/kg, Futter	11,25
27. III. 1936				46,25
28. III. 1936				26,25
20. IV. 1936	25	2,42	0,25 g/kg	0
21. IV. 1936			0,25 g/kg, nüchtern gesetzt	27,50
22. IV. 1936			0,25 g/kg, Futter	11,25
23. IV. 1936			0,25 g/kg, nüchtern gesetzt	7,50
24. IV. 1936		2,45		22,50
20. IV. 1936	26	2,78	0,25 g\kg	0
21. IV. 1936			0,25 g/kg, nüchtern gesetzt	55,0
22. IV. 1936			0,25 g/kg, Futter	22,55
23. IV. 1936			0,25 g/kg, nüchtern gesetzt	10,0
24. IV. 1936		2,62		21,25
20. IV. 1936	29	2,40	nüchtern gesetzt	0
21. IV. 1936			0,5 g/kg	0
22. IV. 1936				55,0
23. IV. 1936				2,50

Tabelle 2 (Fortsetzung).

Datum	Tier Nr.	Gewicht kg	Höhe der Dosis	Harnkreatin in mg
			c) Chinin-Bayer, subcutan.	
4. V. 1936	30	2,50	0,5 g/kg	0
5. V. 1936			0,5 g/kg	107,5
6. V. 1936			0,5 g/kg, nüchtern gesetzt	165,6
7. V. 1936				37,0
8. V. 1936				55,0
9. V. 1936				7,25
5. VI. 1936	34	2,35	0,5 g/kg	0
6. VI. 1936			0,5 g/kg	0
7. VI. 1936				195,0
8. VI. 1936				77,0
9. VI. 1936				tot!
7. II. 1938	35	2,80	0,25 g/kg	10,0
8. II. 1938			0,25 g/kg, nüchtern gesetzt	33,0
9. II. 1938		2,67		161,0
7. II. 1938	36	2,43	0,25 g/kg	5,0
8. II. 1938			0,25 g/kg, nüchtern gesetzt	102,0
9. II. 1938		2,35		72,0
7. II. 1938	37	2,15	0,25 g/kg	12.0
8. II. 1938			0,25 g/kg, nüchtern gesetzt	64,0
9. II. 1938		2,12		48,0
			d) Sarkosinanhydrid.	
22. V. 1936	31	3,05	0,75 g/kg einer 37,5 %ig. Lösung subcutan	0
23. V. 1936			0,75 g/kg	0
24. V. 1936				0
25. V. 1936				0
			e) Chinin-Gluconat, subcutan.	
22. V. 1936	33	2,80	0,5 g/kg einer 10 %ig. Lösung	0
23. V. 1936				tot

Gibt man das Chinin nach 24stündigem Hungern, wie es bei einer ganzen Anzahl von Versuchen geschehen ist (kenntlich durch die Bemerkung in Tabelle 2: „nüchtern gesetzt"), so fällt die Kreatinurie viel stärker aus als dann, wenn das Tier dauernd gefüttert war. Sie hält auch an, wenn unmittelbar nach der Vergiftung wieder gefüttert wird, ist also durch Zufuhr auch sehr kohlehydratreicher Nahrung nicht sofort zu beheben. Es handelt sich daher hier nicht etwa um eine Kombination von Hungerkreatinurie mit Chininkreatinurie. Denn 24 Stunden Hungern allein vermag nach unseren Erfahrungen im allgemeinen noch keine Kreatinurie zu erzeugen. Vielmehr sind dazu mindestens 48 Stunden Hungerns notwendig. Außerdem ist die Hungerkreatinurie im Gegensatz

zur Chininkreatinurie durch Zufuhr von Nahrung in kürzester Zeit wieder zum Verschwinden zu bringen.

Wie viele andere Kreatinurien, so hält auch die Chininkreatinurie einige Tage noch nach der letzten Verabreichung des Giftes an. Die durch Chinin ausgelöste Stoffwechselstörung bleibt somit länger bestehen, als der Verweildauer des Chinins im Organismus entsprechen dürfte. Sie ist zu einer selbständigen Krankheit geworden, die ganz unabhängig von einer weiteren Zufuhr von Chinin noch einige Tage lang andauert.

Unsere Beobachtung steht in Widerspruch zu der bisherigen Meinung, wie sie etwa von Rohde (28) dargestellt wird. Danach soll Chinin im Rahmen einer starken Verminderung der N-Ausscheidung im Urin parallel damit gleichzeitig auch eine Herabsetzung der Kreatinausscheidung bewirken. Nach unseren Untersuchungen dürfte diese Behauptung aber wohl nicht richtig sein.

III. Blutzucker und Blutmilchsäure nach Chinin.

Der Blutzucker wurde nach Hagedorn-Jensen, die Milchsäure nach Mendel und Goldscheider mit den von Brentano (8) angegebenen Kautelen bestimmt. Bei jedem Tier wurden zwei derartige Versuche ausgeführt: Der erste, solange das Tier stoffwechselgesund, d. h. ohne Kreatinurie war, der zweite dann, nachdem künstlich bei dem gleichen Tier eine Kreatinurie erzeugt worden war. Die Kreatinurie wurde durch subcutane Injektion von 1 g/kg Urethan in 20 %iger wässeriger Lösung hervorgerufen.

Gifte, die die Gewebsatmung schädigen, führen gewöhnlich zu Hyperglykämie und Hyperlactacidämie. So sehen wir etwa in der Äthernarkose ein starkes Ansteigen von Blutzucker und Blutmilchsäure (76). Hyperglykämie und -glykosurie wird z. B. auch hervorgerufen durch Morphium, Alkohol, Chloralhydrat, Paraldehyd und Hedonal (14). Auch subcutane Injektion von NaCN (4) oder Inhalation von Kohlenoxyd (1, 31) bewirken die gleichen Erscheinungen. Dementsprechend ist bei zahlreichen derartigen Atmungsgiften auch das Auftreten von Zucker und Milchsäure im Harn nachgewiesen.

Auch vom Chinin ist nachgewiesen, daß es eine Hyperglykämie hervorruft, wie oben schon besprochen wurde (15. 20, 21, 30). Über eine Beeinflussung des Milchsäurestoffwechsels durch Chinin ist außer der schon erwähnten Beobachtung von Küng (20) meines Wissens bisher nichts bekanntgeworden. Wir gaben deswegen drei Kaninchen zunächst in stoffwechselgesundem Zustand, d. h. ohne Kreatinurie, Chininum hydrochloricum per os (die Dosierung geht aus der Tabelle hervor) und verfolgten das Verhalten von Blutzucker und -milchsäure. Die Ergebnisse bringt Tabelle 3: Die Blutzuckersteigerung durch Chinin ist erheblich. Sie lag in sechs Versuchen mindestens um 106, höchstens um 263 mg% über dem Ausgangswert. Der Höhepunkt der Blutzuckersteigerung wurde bei der peroralen Verabfolgung des Chinins etwa 2—3 Stunden später

Tabelle 3. Verhalten des Blutzuckers und der Blutmilchsäure nach Chininum hydrochloricum per os bei Kaninchen ohne und mit Kreatinurie.

Tier Nr.	Gewicht in kg	Harnkreatin in mg	Verfütterte Chininmenge in g/kg	Blutmilchsäure in mg%								Blutzucker in mg%							
				Minuten nach Chinin						Anstieg um mg%	Anstieg um mg%	Minuten nach Chinin						Anstieg um mg%	
				Vorher	10	20	40	60	90	120		Vorher	10	20	40	60	90	120	
27	2,62	0	0,25	42,50	97,50	68,75	68,75	61,25	62,50	55,00	55	95	112	111	128	150	214	237	142
	2,40	28,75	0,25	46,25	43,75	37,50	46,25	42,50	46,25	47,50	0	105	120	134	145	166	198	211	106
28	2,30	0	0,50	32,50	75,00	106,25	91,25	106,25	105,0	75,00	73,75	107	118	125	148	197	241	253	146
	2,20	51,25	0,50	42,50	48,75	48,75	46,25	42,50	50,0	46,25	7,50	134	175	190	213	234	234	244	110
				Vorher	10	20	60	120	150	180		Vorher	10	20	60	120	150	180	
29	2,40	0	0,50	30,0	80,0	97,5	73,75	33,75	30,0	30,0	67,50	96	124	135	202	171	202	200	106
	2,70	28,75	0,50	61,25	61,25	63,75	63,75	56,25	57,50	61,25	2,50	109	173	201	237	372	243	271	263

erreicht. Auch die Blutmilchsäure steigt beträchtlich an, solange die Tiere gesund sind und keine Kreatinurie haben. Der Anstieg der Blutmilchsäure lag bei drei derartigen Versuchen ohne Kreatinurie zwischen 55 und 73,75 mg% über dem Ausgangswert. Dabei wurde das Maximum des Milchsäurespiegels sehr viel schneller erreicht als der Gipfelpunkt der Blutzuckerkurve, nämlich schon 20 Minuten nach der Verfütterung des Chinins.

Nachdem wir auf diese Weise Chinin als kräftigen Reiz für die Erzeugung einer Hyperlactacidämie beim gesunden Kaninchen ohne Kreatinurie kennengelernt hatten, lag es nahe, den Einfluß des Chinins auf die Blutmilchsäure auch während einer Kreatinurie zu untersuchen. Denn Brentano und seine Mitarbeiter (8, 13, 17) haben nachgewiesen, daß der Anstieg der Blutmilchsäure, der beim gesunden Tier unter dem Einfluß der verschiedensten Hyperlactacidämie erzeugenden Reizen auftritt, dann ausbleibt, wenn eine Kreatinurie, also ein Glykogenzerfall, besteht. Er sah dieses Verhalten bei Adrenalin, NaCN, teilweise auch bei $NaHCO_3$ und bei Muskelarbeit. Während alle diese Reize beim gesunden Tier, solange also keine Kreatinurie besteht, einen kräftigen Anstieg der Blutmilchsäure herbeiführen, bleibt diese Hyperlactacidämie sofort aus, wenn es zu Kreatinurie kommt.

Wir fragten uns: Zeigt auch das Chinin diese Änderung in seinem Einfluß auf die Blutmilchsäure, sobald beim Versuchstier eine Kreati-

nurie eingetreten ist? Das ist in der Tat der Fall, wie aus Tabelle 3 hervorgeht. Wir haben nämlich bei den gleichen Versuchstieren, bei denen wir in einem ersten Versuch die Chininhyperlactacidämie bzw. -hyperglykämie untersucht hatten, als sie noch gesund und kreatinfrei waren, einen zweiten Versuch durchgeführt, nachdem bei denselben Tieren experimentell eine Kreatinurie erzeugt worden war. Wir verwendeten zur Erzeugung der Kreatinurie Urethan (1 g kg sec). Sobald sich eine kräftige Kreatinurie entwickelt hatte, im allgemeinen 24 Stunden nach der Urethaninjektion, wiederholten wir die Chininfütterung und verfolgten wiederum Blutzucker und -milchsäure. In der Tat bleibt während der Kreatinurie die Chininhyperlactacidämie ganz oder fast ganz aus. Der höchste Anstieg der Blutmilchsäure betrug jetzt nur noch 7,5 mg% über den Ausgangswert. Die Chininhyperglykämie hingegen fiel während der experimentellen Kreatinurie nicht wesentlich anders aus als im ersten Versuch beim gesunden Tier.

Während Brentano das Ausbleiben der Hyperlactacidämie im Glykogenzerfall früher mit einer Störung der Milchsäurebildung in der Muskulatur erklärte, hat er neuerdings nachgewiesen (26), daß es sich bei dieser Stoffwechselstörung um eine Beschleunigung der Milchsäurebeseitigung handelt, nämlich um ein gesteigertes Assimilationsvermögen der Leber für Milchsäure. Es verläuft demnach offenbar während der Kreatinurie die Milchsäurebildung im Muskel, einerlei ob sie durch Adrenalin, NaCN oder Alkalose stimuliert worden ist, genau so ausgiebig wie im gesunden Zustand ohne Kreatinurie. Jedoch arbeitet jetzt die Funktion der Milchsäurebeseitigung aus dem Blute sehr viel schneller als normalerweise. Die Milchsäure wird rascher von der Leber aufgefangen und dort wieder zu Glykogen aufgebaut als beim gesunden Tier. In gleicher Weise wird man sich wohl auch das Fehlen der Chininhyperlactacidämie im Glykogenzerfall erklären müssen.

IV. Glykogenbildung aus verfüttertem Traubenzucker bei Chininvergiftung.

Wir verwendeten zu diesen Versuchen wiederum weibliche Kaninchen in gutem Ernährungszustand zwischen 2 und 3 kg Körpergewicht. Die Versuchstechnik war genau die gleiche, wie sie in einer früheren Arbeit (7) ausführlich beschrieben worden ist. Nach 24stündigem Hungern bekamen die Tiere durch die Schlundsonde 10 g/kg einer 50 %igen wässerigen Traubenzuckerlösung in zwei gleichen Portionen, die zweite 2 Stunden nach der ersten. 5 Stunden nach der ersten Sondierung wurde in kurzem Ätherrausch der Musculus tibialis anterior der einen Körperseite und ein Stückchen Leber zwischen 0,5 und 1 g herausgenommen und auf ihren Glykogengehalt untersucht. Es wurden bei jedem Tier zwei derartige Versuche gemacht: der erste Versuch, solange das Tier noch gesund und kreatinfrei war, der zweite dann, nachdem mit Chinin eine Kreatinurie erzeugt worden war. Zu diesem Zwecke hatten die vorher kreatinfreien Tiere 1—2 Tage lang vor dem Versuch täglich einmal 0,25 g/kg Chinin „Bayer" subcutan erhalten. Außerdem wurde

ihnen, wie oben schon angegeben, 24 Stunden vor der Traubenzuckerfütterung die Nahrung weggenommen.

Zwischen dem Auftreten von Kreatin im Harn und dem Glykogenstoffwechsel der Muskulatur besteht ein gesetzmäßiger Zusammenhang, wie Brentano nachgewiesen hat. Bei jeder Kreatinurie kommt es zu einer Glykogenverminderung in der Skeletmuskulatur (3, 4) und gleichzeitig zu einer Herabsetzung der Fähigkeit des Muskels, weniger der Leber, aus verfüttertem Traubenzucker Glykogen zu bilden (7). Es war daher zu erwarten, daß auch Chinin diese Störungen im Glykogenstoffwechsel hervorrufen würde, da es ja, wie wir sahen, zu Kreatinurie führt.

Das Ergebnis dieser Versuche geht aus Tabelle 4 hervor: Die drei Versuchstiere bildeten aus dem verfütterten Traubenzucker, als sie noch gesund

Tabelle 4. Glykogenbildung aus verfüttertem Traubenzucker beim gleichen Tier ohne und mit Chinin-Kreatinurie (bzw. vor und während Chinin-Behandlung).

Tier Nr.	I. Versuch, ohne Kreatinurie, Glykogen in g%			II. Versuch, mit Kreatinurie Glykogen in g%				Abnahme der Glykogenbildung während der Kreatinurie in %	
	Gewicht in kg	Muskel	Leber	Gewicht in kg	Kreatin in mg	Muskel	Leber	Muskel	Leber
								bezogen auf den Ausgangswert (= I. Versuch)	
35	2,85	0,638	8,000	2,67	161	0,358	4,842		
36	2,43	0,604	7,022	2,35	72	0,354	4,886		
37	2,35	0,666	7,343	2,12	48	0,385	4,938		
Durchschnitt:		0,636	7,455			0,365	4,888	42,6	34,4

waren, mit sehr guter Übereinstimmung durchschnittlich 0,636 % Glykogen im Muskel und 7,455 % in der Leber. Diese Zahlen liegen nahe bei dem Durchschnitt, den auch Brentano bei seinen Assimilationsversuchen für das gesunde Kaninchen früher schon gefunden hatte (7). Werden die gleichen Tiere aber in einem zweiten Versuch zunächst mit Chinin vorbehandelt, so daß es zu Kreatinurie kommt, und erst dann mit Traubenzucker gefüttert, so zeigt sich das Glykogenbildungsvermögen nunmehr erheblich beeinträchtigt: Im Muskel wird im Durchschnitt nur noch 0,365 % Glykogen abgelagert. Das ist um 42,6 % weniger als beim gesunden Tier. In der Leber findet sich jetzt nur noch ein Mittelwert von 4,888 % Glykogen. Das ist um 34,4 % weniger als im Normalzustand. Wieder zeigt sich also auch hier, bei der Chininvergiftung, die von Brentano schon gemachte Beobachtung, daß im Glykogenzerfall das Glykogenbildungsvermögen der Leber offenbar weniger geschädigt wird als dasjenige der Muskulatur.

V. Einfluß von Insulin auf die geschädigte Glykogenbildung bei der Chininvergiftung.

Wir stellten uns schließlich die Frage: Vermag Insulin die in Abschnitt IV gefundene Beeinträchtigung des Glykogenbildungsvermögens in Leber und Muskulatur wieder auszugleichen und die Fähigkeit zur Glykogenablagerung wieder zu normalisieren? Ist also der durch Chinin ausgelöste Glykogenzerfall insulinresistent oder nicht? Zwar ist die Auffassung weit verbreitet, als ob Insulin in jedem Falle die Glykogenbildung in Leber und Muskulatur fördere. Aber Brentano (9) hat gezeigt, daß das keineswegs immer der Fall ist und hat am Beispiel der Thyroxinvergiftung nachweisen können, daß es auch einen ausgesprochen insulinresistenten Glykogenzerfall gibt.

Wir wendeten zur Beantwortung dieser Frage die gleiche Technik an, wie sie Brentano (9) in seinen Versuchen schon benutzt hat. Wir stellten wiederum bei jedem einzelnen Kaninchen je zwei Versuche an, wobei jetzt die Tiere beide Male mit Chinin vergiftet wurden. Sie bekamen jetzt in beiden Versuchen 10 g/kg Traubenzucker durch die Schlundsonde. Der Unterschied zwischen I. Versuch und II. Versuch bestand lediglich darin, daß das erste Mal der Traubenzucker ohne Insulin gegeben wurde, das zweite Mal jedoch mit Insulin zusammen. Wir gaben 0,5 Einheiten Insulin pro 1 g Traubenzucker — eine Dosis, von der Brentano gefunden hatte, daß sie den insulinempfindlichen Glykogenzerfall prompt zu beheben vermag und hier das geschädigte Glykogenbildungsvermögen der Muskulatur wieder völlig normalisiert (10). Das Insulin wurde im gleichen Zeitpunkt subcutan injiziert, wo der Zucker verabfolgt wurde, und dementsprechend ebenso wie der Zucker in zwei gleichen Hälften gegeben, die zweite 2 Stunden nach der ersten Injektion.

Tabelle 5. Muskel- und Leberglykogen 5 Stunden nach Traubenzuckerfütterung mit und ohne Insulin bei chininbehandelten Kaninchen.

Tier Nr.	I. Versuch Zuckerfütterung ohne Insulin				II. Versuch Zuckerfütterung mit Insulin (0,5 E pro 1 g Zucker)				Unterschied in der Glykogenbildung zwischen Versuch II und I	
	Gewicht in kg	Kreatinausscheidung in mg	Glykogen in g% Muscul. tib. ant. rechts	Glykogen in g% Leber	Gewicht in kg	Kreatinausscheidung in mg	Glykogen in g% Muscul. tib. ant. links	Glykogen in g% Leber	Muskel %	Leber %
68 Ins.	2,34	60	0,667	6,798	2,07	114	0,287	1,614		
76 „	2,44	55	0,157	4,633	2,25	55	0,267	3,582		
86 „	2,22	54	0,302	6,268	2,10	52	0,363	5,978		
91 „	3,10	65	0,548	6,208	3,01	55	0,528	5,467		
Durchschnitt:			0,418	5,977			0,361	4,160	— 13,6	— 30,4

Das Ergebnis dieser Versuche geht aus Tabelle 5 hervor: Betrachten wir zunächst das Verhalten der Muskulatur, so zeigt sich, daß beim chininbehandelten Kaninchen unter Insulin in keinem Falle nennenswert mehr Glykogen im Muskel zur Ablagerung kommt, als wenn der Traubenzucker ohne Insulin verfüttert wird. Zwar bilden die Tiere Nr. 76 Ins. und Nr. 86 Ins. im II. Versuch etwas mehr Muskelglykogen als im I. Versuch. Jedoch liegen die so erreichten absoluten Glykogenwerte von 0,267

bzw. 0,363 % immer noch erheblich unter dem Durchschnitt des normalen Glykogenbildungsvermögens eines gesunden Tieres, wie es etwa in unserer Tabelle 4 im I. Versuch mit einem Durchschnitt von 0,636 % zum Ausdruck kommt. Vergleichen wir nun die Mittelwerte des Muskelglykogens in Tabelle 5, so finden wir beim chininvergifteten Tier im I. Versuch, d. h. nach Traubenzuckerfütterung ohne Insulin, einen Durchschnitt von 0,418 % — im II. Versuch jedoch, d. h. bei Wiederholung der Zuckerfütterung zusammen mit Insulin, nur noch 0,361 % Muskelglykogen im Durchschnitt. Insulin vermag also die Beeinträchtigung des Glykogenbildungsvermögen der Muskulatur bei der Chininvergiftung nicht nur nicht wieder aufzuheben. sondern verschlechtert sie sogar noch weiter um 13,6 %. Der durch Chinin ausgelöste Glykogenzerfall in der Skeletmuskulatur ist also insulinresistent. Ja, die Insulinresistenz bei der Chininvergiftung ist sogar noch etwas höher als diejenige bei der Thyroxinvergiftung, wo nach früheren Versuchen bei Anwendung von 0,5 Einheiten Insulin pro 1 g Zucker das Glykogenbildungsvermögen des Muskels nur um 5,2 % herabgesetzt wird [(9) Tabelle 2]. Ich verzichtete auf eine Fortsetzung der Insulinversuche mit höherer Dosis, weil wir nämlich bei der Thyroxinvergiftung schon die Erfahrung gemacht hatten, daß eine Erhöhung der Insulinmengen die Glykogenbildung im Muskel nur noch weiter verschlechtert.

Betrachten wir nun das Verhalten der Leber, so zeigt Tabelle 5, daß Insulin nach Vorbehandlung mit Chinin in allen Fällen die Glykogenablagerung in der Leber noch weiter herabsetzt. Im Durchschnitt findet sich nämlich unter Insulin ein Gehalt an Leberglykogen von nur 4,160 % gegen einen solchen von 5,977 % nach der gleichen Zuckerfütterung ohne Insulin. Die Glykogenmenge, die in der Leber nach Zuckerfütterung zur Ablagerung kommt, wird also durch Insulin um 30,4 % vermindert. Diese Feststellung bedeutet uns keine Überraschung. Wissen wir doch nach den Untersuchungen von Brentano (11), daß Insulin wohl in den meisten Fällen auch beim gesunden Normaltier (mit einziger Ausnahme wohl der Pankreasexstirpation) bei gleichzeitiger Zuckerfütterung die Glykogenfüllung der Leber vermindert im Vergleich zu jenem Glykogengehalt, der nach Zuckerfütterung ohne Insulin gefunden wird. Brentano erklärt dieses Verhalten mit einer Erhöhung des Zuckerbedarfs der Muskulatur durch das Insulin, die beim Normaltier und bei insulinempfindlichem Glykogenzerfall (z. B. Pankreas-, Hunger- oder Phlorrhizindiabetes) in einer Erhöhung der Zuckerverbrennung (25) und in gesteigerter Glykogenbildung im Muskel zum Ausdruck kommt.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Wir fragen uns, wie man sich den Zusammenhang zwischen den einzelnen von uns beschriebenen Phänomenen der Chininwirkung vorzustellen hat. Wir sind ja eingangs schon von der Annahme ausgegangen, daß Chinin auch im lebenden Organismus als Fermentgift wirkt, das vor

allem die innere Atmung der Zellen hemmt. Für diese Annahme sprechen in der Tat z. B. auch die Untersuchungen von Lipschitz und Freund (22, 23). Ein solcher Einfluß muß sich aber naturgemäß zu allererst auch in einer Hemmung der Zuckerverbrennung auswirken — einer Störung, die ihren Hauptsitz wohl in der Skeletmuskulatur haben dürfte als dem Orte des größten Zuckerverbrauchs. Diese Hypothese ist imstande, alle obenbeschriebenen Erscheinungen befriedigend zu erklären.

Die Chininhyperglykämie kann dann nämlich als die Folge der erschwerten Zuckerverbrennung in der Muskulatur angesehen werden — nicht anders als die oben schon erwähnten Hyperglykämien, die von den verschiedensten anderen Atmungsgiften hervorgerufen werden. Weil der von der Leber gelieferte Zucker von den Geweben und vor allem vom Muskel nicht mehr bzw. nicht mehr genügend schnell oxydativ beseitigt werden kann, deswegen häuft er sich zunächst einmal rein passiv im Blute an. Dieser Vorgang läßt an eine gewisse Analogie zur diabetischen Hyperglykämie denken, die als Folge des Insulinmangels zustande kommt. Denn da Insulin dasjenige Hormon ist, das den Anteil der Zuckerverbrennung an den Gesamtoxydationen im Organismus möglichst hochhält, so führt sein Ausfall bekanntermaßen zu einem Zurücktreten der oxydativen Zuckerverwertung zugunsten anderer Verbrennungsprozesse, besonders der Fettverbrennung, wie aus dem Verhalten des Respirationsquotienten im Diabetes hervorgeht.

Die Analogie zwischen Insulinmangel und Atmungsgiften in bezug auf ihre Schädigung der Zuckerverbrennung würde dann darin liegen, daß im ersten Falle der Wirkstoff fehlt, der zur hormonalen Stimulierung des Fermentsystems der Zuckeroxydation notwendig ist. Im zweiten Falle hingegen lähmen die Atmungsgifte dieses Fermentsystem, so daß trotz genügenden Vorhandenseins von Insulin die Zuckerverbrennung erschwert ist.

Aber ebenso wie wir heute die diabetische Hyperglykämie, etwa zusammen mit Brentano (12), nicht mehr als ein rein passiv entstandenes Phänomen betrachten, ebenso dürfen wir uns vorstellen, daß auch die Chininhyperglykämie aktiv zustande kommt durch gesteigerte Zuckerausschüttung aus der Leber · möglicherweise auf dem Umweg über eine reflektorisch-neural ausgelöste Adrenalinausschüttung. Ähnlich wie beim Diabetes können wir in einer solchen aktiven Zuckerausschüttung einen Versuch des Organismus erblicken, durch eine Erhöhung der Zuckerkonzentration in Blut und Gewebssäften entsprechend dem Massenwirkungsgesetz die Zuckerverwertung in den Geweben zu erleichtern und ihre Störung zu kompensieren.

Wenn aber die oxydativen Vorgänge im Muskel erschwert sind, so wird er sich zwangsläufig in erhöhtem Maße auf anoxybiotische Umsetzungen umstellen müssen. Aus diesem Grunde dürfte es wohl aktiv zu einer Steigerung der Bildung von Milchsäure im Muskel

kommen. Allerdings kann die Energiemenge, die aus dem anoxybiotischen Zerfall des Glykogens zu Milchsäure frei wird, nicht sehr groß sein. Sehr viel mehr wird wohl die Milchsäure dazu dienen, um nach ihrer Resynthese zu Glykogen in der Leber den von dort ausgeschütteten Zucker wieder zu ersetzen. Da aber der Wiederaufbau der Milchsäure zu Glykogen ein oxydativer Vorgang ist, so wird auch er wohl durch das Chinin gestört. Die oxydative Resynthese der Milchsäure in der Leber und damit ihre Beseitigung aus dem Blute wird erschwert. Es kommt auf diese Weise auch passiv zu einer Hyperlactacidämie.

Wie oben schon in Abschnitt III besprochen wurde, fehlt die Chininhyperlactacidämie im Glykogenzerfall. Sie bleibt also immer dann aus, wenn zur Zeit der Chininverabfolgung schon aus einem anderen Grunde eine Kreatinurie besteht. Dieses Fehlen wurde oben schon nach den Untersuchungen von Mavros und Brentano (26) mit einer Steigerung des Assimilationsvermögens der Leber für Milchsäure erklärt, die offenbar immer dann eintritt, wenn ein Glykogenzerfall vorhanden ist. Auf welchem Wege die Verbesserung der Milchsäureassimilation zustande kommt, ist noch unklar — um so unklarer im vorliegenden Falle deswegen, weil es sich dabei doch einerseits um die Steigerung eines oxydativen Vorgangs handelt (Pasteur-Meyerhofscher Prozeß), weil andererseits jedoch bei der Chininvergiftung gerade die oxydativen Vorgänge unserer Vorstellung nach besonders beeinträchtigt sind.

Die Hemmung der Glykogensynthese aus Traubenzucker (Abschnitt IV) unter dem Einfluß von Chinin können wir als die Folge der gestörten Zuckerverbrennung erklären. Denn Glykogensynthese und Zuckerverbrennung sind gekoppelte Vorgänge derart, daß die Zuckeroxydation die Energie für den Glykogenaufbau liefert. Ist aber das eine Glied dieser gekoppelten Reaktion, nämlich die Zuckerverbrennung, geschädigt, so müssen sich die Folgen einer Schädigung auch am anderen Glied, nämlich der Glykogenbildung bemerkbar machen.

Warum ist nun die durch Chinin hervorgerufene Schädigung der Glykogensynthese im Muskel (Abschnitt V) nicht durch Insulin zu beheben? Wir müssen zur Beantwortung dieser Frage auf das zurückgreifen, was oben schon besprochen wurde. Die Störung der Zuckerverbrennung bei der Chininvergiftung ist nämlich, wie wir uns vorstellen, auf eine Vergiftung des Atmungsferments zurückzuführen, nicht auf einen Mangel an Insulin. Insulin vermag aber offenbar nicht eine Entgiftung des Ferments zu bewirken. Mag vielleicht auch ein unvergiftet gebliebener Anteil des Atmungsferments durch das Insulin noch zu maximaler Zuckerverbrennung stimuliert werden, so bleibt dieser Anteil doch zu gering, um damit die Gesamtoxydationen auf eine reine Zuckerverbrennung umzustellen, wie es etwa beim gesunden Individuum unter Insulin geschieht.

Dieser Befund bedeutet für uns eine gewisse Warnung vor allzu intensiver Anwendung von Chinin beim Diabetes. Ist es doch denkbar, daß Chinin hier eine Insulinresistenz auslösen kann. Allerdings müßte diese Möglichkeit noch bewiesen werden, da ja die beim Menschen zur Anwendung kommenden Chinindosen erheblich kleiner sind als jene, mit denen wir hier gearbeitet haben.

Wir fragen uns in diesem Zusammenhang: Was wird aus dem verfütterten Traubenzucker, der während einer Chininvergiftung nicht als Glykogen abgelagert wird? Wahrscheinlich hat er das gleiche unbekannte Schicksal wie bei jedem anderen Glykogenzerfall auch (24). Wir wissen nur, daß er nicht etwa in größerer Menge unverwertet mit dem Urin ausgeschieden wird, und daß er nicht verbrannt wird.

Es bleibt schließlich noch die Kreatinurie (Abschnitt II) zu erklären. Wie sie zustande kommt, ist noch unbekannt. Wir wissen lediglich nach den Untersuchungen von Brentano, daß sie eine obligatorische Begleiterscheinung eines jeden pathologischen Glykogenzerfalls in der Skeletmuskulatur ist, ganz einerlei, auf welchem Wege dieser jeweils ausgelöst wird.

Die von uns beschriebenen Veränderungen des Stoffwechsels unter Chinin entsprechen völlig dem „Symptomenkomplex des Glykogenzerfalls in der Skeletmuskulatur", wie ihn Brentano (5) beschrieben hat, und wie er auch durch zahlreiche andere Gifte und Schädigungen ausgelöst werden kann. Sie sind also keineswegs spezifisch für das Chinin, sondern offenbar eine unspezifische Begleiterscheinung, wie sie auch vielen anderen Pharmaca zukommt. Ob sie zu den spezifischen Wirkungen des Chinins, z. B. zu seinem Einfluß auf die Malariaplasmodien oder auf den Herzmuskel, in irgendwelchen Beziehungen stehen, ist zwar nicht erwiesen, aber doch wahrscheinlich.

Zusammenfassung.

Die letale Dosis des Chinins für Kaninchen wird bestimmt. Chinin ruft in großen Dosen beim Kaninchen im Stoffwechsel einen unspezifischen Komplex von Erscheinungen hervor, wie er unter anderm auch von allen denjenigen Giften erzeugt wird, die eine Hemmung der Gewebsatmung bewirken, nämlich den „Symptomenkomplex des Glykogenzerfalls". Chinin macht eine Kreatinurie. Es führt zu einer Erhöhung von Blutzucker und Blutmilchsäure. Die Erhöhung der Blutmilchsäure bleibt aus, wenn bei den Versuchstieren schon aus anderen Gründen als durch Vorbehandlung mit Chinin eine Kreatinurie besteht. Chinin beeinträchtigt die Fähigkeit von Muskulatur und Leber, aus verfüttertem Traubenzucker Glykogen zu bilden. Diese Schädigung der Glykogensynthese ist durch Insulin nicht wieder auszugleichen. Der durch Chinin erzeugte Glykogenzerfall ist also insulinresistent.

Literaturverzeichnis.

1) Araki: Z. physiol. Chem. **19**, 422 (1894). — 2) Bachem: Ther. Mh. **24** (1910). — 3) Brentano: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **155**, 21 (1930). — 4) Brentano: Ebenda **163**, 156 (1931). — 5) Brentano: Verh. dtsch. Ges. inn. Med., 47. Kongr. 1935, S. 441. — 6) Brentano: Z. Klin. Med. **124**, 237 (1933). — 7) Brentano: Z. exper. Med. **98**, 677 (1936). — 8) Brentano: Z. Klin. Med. **120**, 249 (1932). — 9) Brentano: Ebenda **135**, 495 (1939). — 10) Brentano: Klin. Wschr. **18** I, S. 82 (1939). — 11) Brentano: Ebenda **18** I, S. 42 (1939). — 12) Brentano: Dtsch. med. Wschr. **1935**, S. 365 und 409; **1936**, S. 1409. — 13) Bularczyk: Z. exper. Med. **102**, 600 (1938). — 14) Burdi: Ebenda **71**, 480 (1930). — 15) Fujino: Okayama-Igakkai-Zasshi **42**, 1188 (1930); Jap. J. med. Sci., Tokio, Trans. IV, Pharmacol. **5**, 61 (1930). — 16) Fuss: Z. exper. Med. **72**, 313 (1930); **73**, 506 (1930); Dtsch. med. Wschr. **60** II, 1627 (1934). — 17) Hilmers: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 85 (1939). — 18) Hunt: Nach Flury u. Zernik, im Hdb. d. biol. Arbtsmethd. v. Abderhalden, Abt. IV, Teil 7, Heft 7, S. 1320, Lieferg. 251 (1928). — 19) Kagawa: Mitt. med. Ges. Tokio **43**, 463 (1929); Jap. J. med. Sci. Tokio, Trans. IV Pharmacol. **5**, 113 (1931); Kongr. zbl. inn. Med. **65**, 357 (1932). — 20) Küng: Z. exper. Med. **88**, 42 (1933). — 21) Kuno: Fol. pharmacol. jap. **9**, H. 4; dtsch. Zusfassg. **22** (1930). — 22) Lipschitz: Pflügers Arch. **191**, 1; **196**, 464. — 23) Lipschitz u. Freund: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **99**, 226 (1923). — 24) Lohmann, Ruth: Klin. Wschr. **16** II, 1682 (1937). — 25) Lohmann, Ruth: Z. Klin. Med. **135**, 505 (1939). — 26) Mavros u. Brentano: Ebenda **135**, 528 (1939). — 27) Riesser u. Brentano: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **155**, 1 (1930). — 28) Rohde, E.: Heffters Hdb. d. Pharmakol. Bd. 2 I, S. 23 (1920). — 29) Schröder: Arch. exper. Path. (D.) **72**, 361 (1913). — 30) Silberstein: Zbl. Physiol. **29**, 413 (1915). — 31) Thiel: Z. exper. Med. **88**, 207 (1933).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Innsbruck.

Die Kreislaufwirkung des Veratrins.

Von

A. Jarisch und **H. Richter.**

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Juli 1939.)

v. Bezold[1] fand 1867, daß das Veratrin den Blutdruck senkt, solange die Vagi intakt sind, ihn jedoch steigert, wenn man sie durchschneidet und bezog die Blutdrucksenkung auf eine Erregung afferenter und depressorisch wirksamer Vagusfasern aus dem Herzen. Lissauer[2] lehnte 1887 diese Erklärung der Blutdrucksenkung ab, wogegen sie Eden[3] 1892 beim Protoveratrin wieder gelten ließ. Auf Grund von Beobachtungen, die wir als vollkommen zutreffend bezeichnen können, trat Cramer[4] 1915 beim Veratrum viride wieder für die Reflexnatur der Blutdrucksenkung ein, doch vermochte sich die Auffassung nicht durchzusetzen. Jedenfalls ließ Boehm[5] 1920 die Frage unentschieden und Sollmann[6] bezog 1936 die Blutdrucksenkung auf die begleitende Bradycardie, die er mit v. Bezold[1] und Meyer-Gottlieb[7] als Folge einer direkten Erregung des Vaguszentrums durch das Veratrin betrachtet; auch Haas[8] bringt 1938 den Einfluß der Vagotomie auf die Blutdruckwirkungen des Germerins mit der Herzhemmung in Zusammenhang. Unsere Versuche führten, wie bereits kurz mitgeteilt[9], zu einer Bestätigung der alten Bezoldschen Auffassung.

Wir untersuchten die Veratrinwirkung eingehend, weil sie einen Mechanismus betrifft, auf den wir bei der Untersuchung der Kreislaufwirkung der Mistel[10] gestoßen waren und der seiner ganzen Eigenart nach von weitgehender Bedeutung scheint. Das Veratrin eignet sich für die Untersuchung jenes Reflexapparates besser als die Mistel, weil es sich leichter dosieren läßt und weniger herzgiftig ist.

Allgemeine Methodik: die Versuche wurden hauptsächlich an Katzen in Chloralosenarkose (0,05 Chloralose mit 0,25 Urethan/kg intramuskulär) angestellt. Der arterielle Druck wurde aus der rechten Carotis und der Venendruck aus der rechten V. subclavia geschrieben. Venenkanüle in der linken Jugularis. Zur Ausschaltung der Vagi wurde das Halsnervenpaket ohne Trennung in die einzelnen

---

[1] Bezold, A. v., u. L. Hirt: Unters. a. d. physiol. Laboratorium in Würzburg **1**, 95 (1867). — [2] Lissauer, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **23**, 36 (1887). — [3] Eden, Th. W.: Ebenda **29**, 440 (1892). — [4] Cramer, W.: J. Pharmacol. (Am.) **7**, 63 (1915). — [5] Boehm, R.: Heffters Handb. **2**/1, 271. — [6] Sollmann, T.: Manual of Pharmacol. 1936. — [7] Meyer, H. H., u. R. Gottlieb: Experimentelle Pharmakologie 1933. — [8] Haas, H. T.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 397, 411 (1938). — [9] Jarisch, A., u. H. Richter: Klin. Wschr. **1939**, 185. — [10] Henze, C., u. A. Jarisch: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 706 (1937); **191**, 30 (1939); Wien. klin. Wschr. **1938**, 1032.

Stämme nach Henze[11] gekühlt. Kontrolle der Rectaltemperatur. Veratrinum hydrochloricum Merck in 0,1 bis 0,2 ‰ Lösung.

Die Wirkung bei ausgeschaltetem Vagus.

Bei durch Kälte blockiertem Vagus bewirkt die intravenöse Injektion von 0,05—0,1 mg/kg in der Regel eine Blutdrucksteigerung. Ihr Ausmaß hängt, wie schon v. Bezold angab, von der Höhe des Ausgangsblutdrucks ab, sie ist gering bei hohem Blutdrucke und kann bei niedrigem bis 100% betragen.

Nach der ersten Veratrininjektion kann aber gelegentlich auch eine Blutdrucksenkung von etwa 1 Minute Dauer auftreten, die bei Wiederholung der Injektion nicht mehr erscheint. Über den Mechanismus dieser einmaligen Blutdrucksenkung ließ sich Folgendes feststellen. Herr Professor Heymans hatte die Freundlichkeit, dem einen von uns im Genter pharmakologischen Institut Versuche am Carotissinuspräparat des Hundes zu ermöglichen; die erste Injektion von 0,01—0,05 mg Veratrin bewirkte eine kräftige Blutdrucksenkung mit Bradycardie, die etwa 1 Minute anhielt; die zweite wirkte schon schwächer und die dritte meist überhaupt nicht mehr. Wurden die Gefäße des Glomus caroticum mit Lycopodium embolisiert, dann blieb die Blutdrucksenkung aus; es handelt sich also um eine Erregung von Chemorezeptoren im Glomus caroticum, wie nach OH- oder K-Ionen (Hauss und Shen[12]), die bald in Lähmung übergeht; vielleicht entspricht dies der bekannten Eigentümlichkeit des Veratrins sensible Nerven erst zu erregen und dann zu lähmen. Die Blutdrucksteigerung nach der Injektion bei blockiertem Vagus tritt hingegen auch nach der Wiederholung immer wieder auf und ist in späteren Versuchsstadien, wenn der Blutdruck niedriger geworden ist, sogar stärker ausgeprägt als im Anfange; sie hält etwa 5 Minuten an. Die Blutdrucksteigerung tritt auch nach Entnervung des Carotissinus, sowie nach Entfernung des Brustsympathicus auf, fehlt hingegen oder ist nur unbedeutend, wenn das Halsmark durchschnitten wird; Zufuhr von Äther schwächt sie bedeutend ab.

v. Bezold betrachtete die Blutdrucksteigerung nach Veratrin beim vagotomierten Tiere als Folge einer Erregung des Vasomotorenzentrums und der Krampfwirkung koordiniert; wir sahen bei der Katze nach unseren Dosen niemals Krämpfe und halten es für möglich, daß die Blutdrucksteigerung reflektorisch durch die Erregung irgendwelcher sensibler Nerven zustande kommt. Pilcher und Sollmann[13] sahen ausgesprochene Erregung des Vasomotorenzentrums nur nach krampfmachenden Veratrindosen.

[11] Henze, C.: Arch. intern. Pharmacodynam. **53**, 44 (1936). — [12] Shen, T. C. R., u. W. Hauss: Ebenda **62**, 411 (1939). — [13] Pilcher, J. D., u. T. Sollmann: J. Pharmacol. (Am.) **7**, 295 (1915).

Die Wirkung bei intaktem Vagus.

Injiziert man bei der Katze 0,05—0,1 mg/kg Veratrin bei intaktem Vagus (Abb. 1a) oder bei gekühltem Vagus und gibt nach einer bis mehreren Minuten durch Erwärmung die Nervleitung frei (Abb. 1b), dann tritt ein dramatischer Drucksturz (bis 80% vom Ausgangswerte) mit in der Regel starker Bradycardie (bis 70%) auf und gleichzeitig wird die Atmung gehemmt. Die Wirkung geht in etwa 5—20 Minuten vorüber, wobei erst die Frequenz und dann der Blutdruck ansteigt; wiederholt man die Injektion, dann tritt der Effekt zunächst noch unverändert ein, später braucht

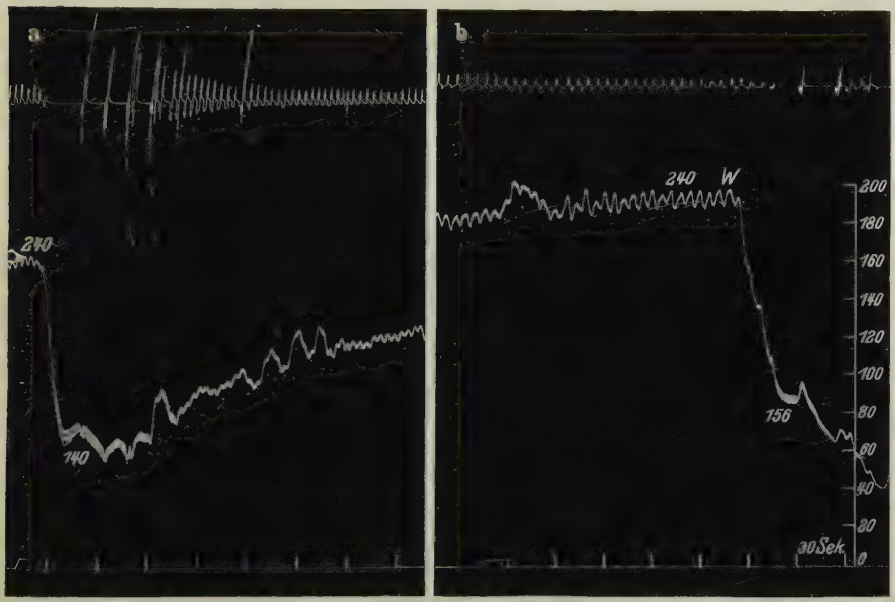


Abb. 1a. Katze, 2600 g, in Chloralosenarkose; oben Atmung, unten Blutdruck, beim Zeichen 0,2 mg Veratrin in die Jugularvene; die Ziffern bedeuten Schlagfrequenzen.

Abb. 1b. Katze, 2000 g in Chloralosenarkose. Beide Halsvagi waren durch Kälte blockiert worden, beim Zeichen wurden 0,2 mg Veratrin injiziert und $2^1/_2$ Min. später wurden bei *W* beide Vagi erwärmt.

man aber zur Erzielung der gleichen Wirkung größere Dosen und schließlich wird der Apparat unter Umständen auch unempfindlich. Es tritt ferner auch eine Art allgemeine Gewöhnung ein, indem Dosen von 3—4 mg/kg, die am frischen Tiere unter Krämpfen töten, vertragen werden; in langfristigen Versuchen wurde auch von Kather[14] eine derartige Gewöhnung festgestellt.

Die Pulsverlangsamung. Die schlagartig einsetzende und mitunter hochgradige Pulsverlangsamung wird im Schrifttum in der Regel als die

[14] Kather, H.: Dissertation Hannover 1936.

alleinige Ursache des Drucksturzes betrachtet, zumal beide nach Vagotomie ausbleiben. Daß diese Auffassung jedoch nicht zutrifft geht aus folgendem hervor: 1. Der Drucksturz tritt, wenn auch meist etwas schwächer, auch nach Atropin noch auf (Abb. 2). 2. In den zentralen Venen steigt der

Abb. 2. Katze, 2700 g in Chloralosenarkose erhielt zunächst 0,5 mg Atropin intravenös; beim Zeichen wurden 0,2 mg Veratrin injiziert. K = Kühlung. W = Wärmung beider Halsvagi.

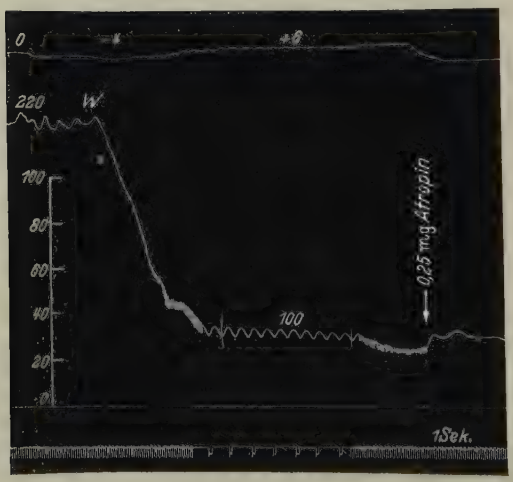


Abb. 3. Katze, 2000 g in Chloralosenarkose; oben Druck in der V. cava sup. (die Ziffern bedeuten Abweichungen vom Ausgangsdrucke in mm Wasser); 3 Min. vorher waren, nachdem beide Vagi durch Kälte blockiert worden waren, 0,5 mg Veratrin injiziert worden: bei W wurden dann beide Halsvagi gewärmt und bei ▼ 0,25 mg Atropin injiziert.

Druck nicht oder nicht so stark, wie es sein müßte, wenn die Herzhemmung die Ursache des Drucksturzes wäre (Abb. 3) und am atropinisierten Tiere fällt er sogar (Abb. 5b). 3. Das Verhältnis von Pulsverlangsamung und Drucksturz ist durchaus nicht konstant. — Die Bradycardie ist somit nicht die Ursache der Blutdrucksenkung, sondern wirkt nur diese verstärkend, und zwar in den einzelnen Versuchen, ihrem jeweiligen Grade entsprechend, verschieden stark. Mit Atropin läßt sich feststellen, in welchem Um-

fange die Bradycardie jeweils an der Blutdrucksenkung mitbeteiligt ist (Abb. 3).

Als Ursache der Pulsverlangsamung wird im Schrifttum meist eine unmittelbare Erregung des Vaguszentrums durch das Veratrin angenommen (v. Bezold, Meyer-Gottlieb, Sollmann). Dies trifft für die von uns verwendeten Dosen sicher nicht zu, denn in Beobachtungen, die der eine von uns im Genter pharmakologischen Institut am Hunde anstellen konnte, trat nach der Injektion von Veratrin in entsprechenden Mengen in die Carotis interna, sowie in die A. vertebralis keine Bradycardie auf. Auch bei der Katze war die Bradycardie nach der Injektion in die A. subclavia dextra nicht stärker als bei der intravenösen Injektion.

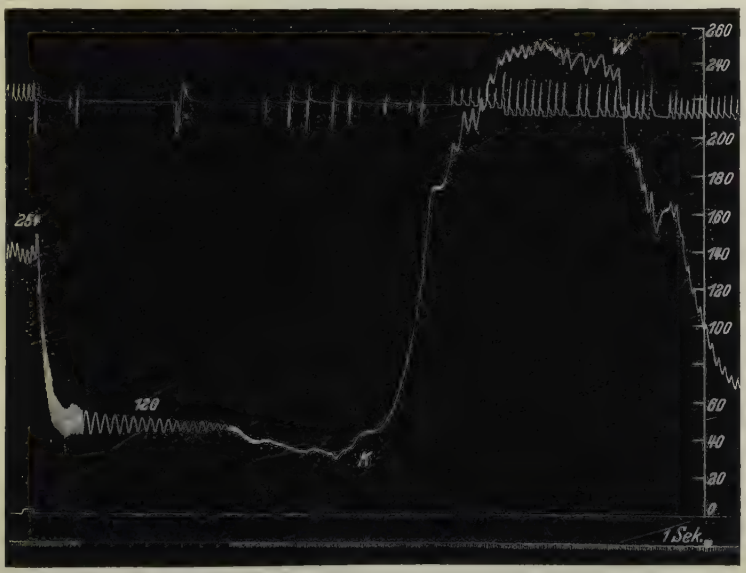


Abb. 4. Katze, 2850 g in Chloralosenarkose, oben Atmung, unten Blutdruck; Carotissinus beiderseits entnervt; beim Zeichen 0,2 mg Veratrin; K = Kühlung, W = Wärmung beider Halsvagi.

Die Bradycardie ist vielmehr als Teilfolge eines im Vagus afferent und efferent geleiteten, den Kreislauf bremsenden Reflexes zu betrachten; dies geht auch aus dem Umstande hervor, daß sie stets von einer reciproken Acceleranshemmung begleitet wird, denn auch nach Atropin tritt noch eine gewisse Pulsverlangsamung ein, die erst bei der Blockierung des Halsvagus verschwindet (Abb. 2). Verstärkt wird die Bradycardie noch dadurch, daß das Veratrin für die hemmende Vaguswirkung im Herzen selber sensibilisiert[15]; die Dinge liegen beim Veratrin genau so wie bei der Mistel.

[15] Bezold, A. v., u. L. Hirt: Unters. a. d. physiol. Laboratorium, Würzburg **1**, 87 (1867); Gilbert-Queralto, J., u. L. Pescador: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **183**, 39 (1936).

Die Blutdrucksenkung. Diese muß ganz entsprechend der Auffassung von v. Bezold und Cramer als vasomotorischen Ursprungs und

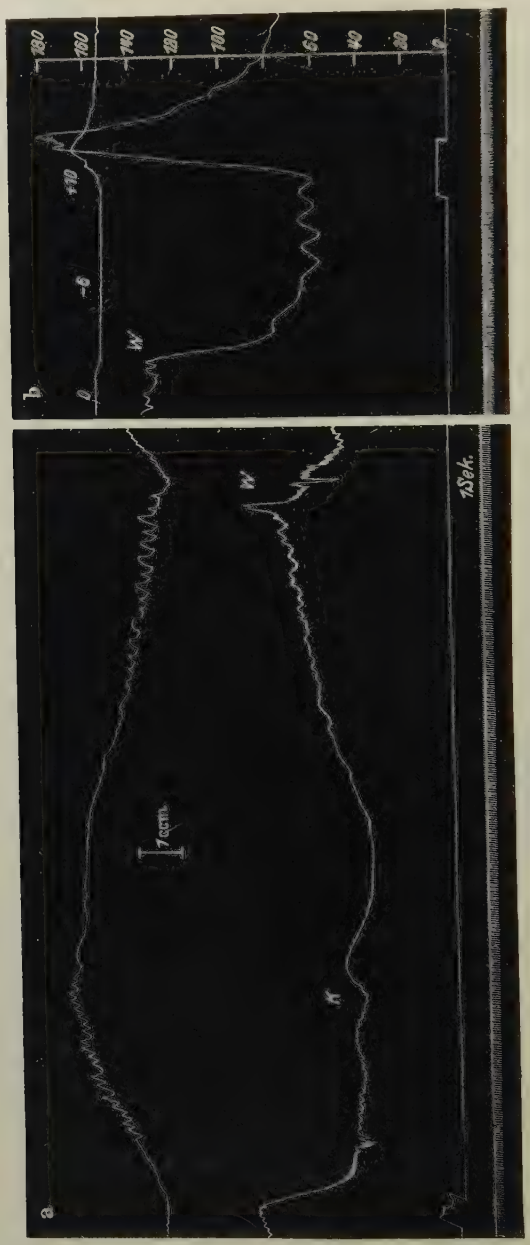


Abb. 5a. Katze, 3100 g in Chloralosenarkose: oben Lebervolumen, unten Blutdruck; beim Zeichen 0,15 mg Atropin; K = Kühlung, W = Wärmung beider Halsvagi.

Abb. 5b. Katze, 2000 g in Chloralosenarkose, atropinisiert; oben Druck der V. cava sup. 6 Min. vorher waren 0,5 mg Veratrin injiziert und beide Vagi gekühlt worden; nun wurden bei W beide Vagi erwärmt und beim Zeichen die Trachea verschlossen.

reflektorisch durch Vermittlung afferenter Vagusfasern ausgelöst gelten, denn sie ist 1., wie eben auseinandergesetzt wurde, nicht die Folge einer

Herzhemmung und 2. jederzeit durch Blockierung des Halsvagus behebbar. Kühlt man nämlich nach dem Eintreten der Blutdrucksenkung die Halsvagi ab, dann steigt der Blutdruck in der Regel steil an, und zwar bis über den Ausgangswert (Abb. 2 und 4); daß höhere Blutdruckwerte erreicht werden, erklärt sich dadurch, daß mit der Vaguskühlung auch die mitlaufenden Aortennerven blockiert werden und ferner die blutdrucksteigernde Wirkung des Veratrins zum Durchbruch kommt.

Daß es sich um eine reflektorische Blutdrucksenkung handelt, folgt auch aus dem Verhalten des Lebervolumens; dieses nimmt zu, wenn der Blutdruck nach Veratrin fällt, und wieder ab, wenn der Vagus blockiert wird (Abb. 5a). Da der Vagus der Katze keine Vasomotoren für die Leber führt[16], muß es sich, wie bei der Mistel[17], um einen Reflex handeln, dessen afferente Bahn im Vagus und dessen efferente Bahn über das Rückenmark und das Abdomen führt. Für die Natur der Blutdrucksenkung nach Veratrin als Hemmungsreflex spricht ferner, daß die Erstickung ebenso wie bei der Mistel[10], unvermindert blutdrucksteigernd wirksam bleibt (Abb. 5b).

Wenn man den Vagus blockiert, nachdem die Blutdrucksenkung längere Zeit angehalten hat, dann kann es vorkommen, daß der Blutdruck nicht so steil wie in den Abb. 2 und 4 ansteigt, sondern langsamer wie in Abb. 5a, dies kommt offenbar daher, daß die Zentren durch die Anoxämie geschädigt werden können und sich erst allmählich erholen.

Über Versuche, die angestellt wurden, um den Ausgangspunkt des Veratrinreflexes festzustellen, wird in der folgenden Mitteilung berichtet werden; hier sei nur erwähnt, daß die Wirkung unverändert auftritt, wenn man den Vagus unter dem Herzen durchschneidet. Sie muß also von Organen der Brusthöhle ihren Ausgang nehmen.

Beim Kaninchen scheinen die Dinge, wie aus den Angaben des Schrifttums und aus unseren eigenen Erfahrungen hervorgeht, ähnlich zu liegen; allerdings haben wir beim Kaninchen (0,01 Morphin und 0,6 Urethan/kg subcutan) nur wenige Versuche angestellt, denn das Kaninchen bekommt meist schon nach kleinen Dosen lebhafte Muskelkrämpfe und auch, wenn diese nicht eintreten, sind die Blutdruckreaktionen nicht so zügig wie bei der Katze und beim Hunde, sondern es pendelt der Blutdruck offenbar unter dem Einfluß der beiden gegensätzlichen Wirkungen des Veratrins häufig so unregelmäßig hin und her, daß man zu keinem klaren Ergebnis gelangt.

Besprechung der Ergebnisse.

Das Bild der Veratrinwirkung deckt sich bis in die meisten Einzelheiten mit dem der Mistelwirkung[10, 17, 19], und darum konnten wir uns hier kürzer fassen.

Der Unterschied besteht darin, daß beim Veratrin die Blutdrucksenkung schlagartig einsetzt und rasch den tiefsten Punkt erreicht, wo-

[16] Griffith, F. R., u. F. E. Emery: Amer. J. Physiol. **95**, 201 (1930); Mc Michael, J.: Ebenda **75**, 241 (1932); Bauer, W., H. H. Dale, L. T. Poulton u. D. W. Richards: J. Physiol. (Brit.) **74**, 343 (1932); Malmejac, J.: Nutrition (Fr.) **7**, 113 (1937); H. Richter: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 40 (1939). — [17] Jarisch, A., u. C. Henze: Ebenda **191**, 30 (1939).

gegen sie bei der Mistel eine gewisse Latenzzeit hat und sich langsamer entwickelt, ferner daß die Mistelwirkung viel länger anhält und am gleichen Tiere in der Regel nicht mehr ein zweites Mal zu erhalten ist, weil der Apparat refraktär wird und schließlich, daß bei der Mistel die blutdrucksenkende Dosis viel näher an der herztötenden liegt als beim Veratrin.

Von den Übereinstimmungen sei nur auf Folgendes verwiesen: die Blutdrucksenkung und die Pulsverlangsamung ist nach der Injektion von Veratrin und Mistelextrakten im Durchschnitt stärker als den Angaben des Schrifttums über die Wirkung der elektrischen Reizung depressorischer Nerven entspricht. Dies dürfte darauf zurückzuführen sein, daß diese Nerven nach den Untersuchungen von Bishop, Heinbecker und O'Leary[18] auch immer pressorische Fasern führen und daher bei der elektrischen Reizung einen Mischerfolg geben, wogegen die chemische Erregung mit unseren Substanzen den depressorischen Apparat wohl selektiv trifft.

Ferner sieht man in den Versuchen mit Veratrin ebenso wie mit der Mistel, wenn man den Vagus blockiert hat und wieder einschaltet, die Bradycardie für einige Sekunden außerordentlich stark einsetzen (vergleiche die Abbildung unserer ersten Mitteilung[9]). Zu den Erklärungsversuchen von Richter und Schröcksnadel[19] möchten wir noch Folgendes ergänzen: es ist möglich, daß der Vagustonus nachläßt, weil das Vaguszentrum durch den niedrigen Blutdruck anoxämisch wird; da die Erscheinung aber auch auftritt, wenn der Blutdruck nicht so extrem fällt, wird man auch an jene komplizierten intrazentralen Zusammenhänge denken müssen, die von Mc Dowall[20] aufgedeckt wurden.

Zusammenfassung.

Die blutdrucksenkende Wirkung des Veratrins beruht auf einem depressorischen Gefäßreflexe, der von den Brustorganen ausgeht und im Vagus afferent geleitet wird.

Die begleitende Bradycardie ist diesem depressorischen Reflexe zugeordnet und die Folge einer reflektorischen Erregung des Vaguszentrums bei gleichzeitiger Hemmung des Acceleranszentrums.

---

[18] Bishop, S. H., B. Heinbecker u. J. O'Leary: Amer. J. Physiol. **109**, 409 (1934). — [19] Richter, H., u. H. Schröcksnadel: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 23 (1939). — [20] Mc Dowall, R. J. S.: J. Physiol. (Brit.) **71**, 420 (1931).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Innsbruck.

Die afferenten Bahnen des Veratrineffektes in den Herznerven.

Von

A. Jarisch und **H. Richter.**

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 5. Juli 1939.)

In der vorhergehenden Mitteilung wurde bestätigt, daß die bei intaktem Vagus auftretende Blutdrucksenkung nach der Injektion von Veratrin auf einem im Vagus afferent geleiteten und von den Brustorganen ausgehenden Kreislaufreflexe beruht; v. Bezold[1] hatte angenommen, daß Endigungen des Vagus im Herzen, und Cramer[2], daß solche in der Lunge erregt würden.

Im folgenden berichten wir über Versuche, die angestellt wurden, um mit Hilfe von Unterbrechungen den Reflexweg in den Nerven der Brustorgane genauer festzulegen.

Das Schrifttum über die Anatomie der Herznerven ist ebenso umfangreich, wie voller Widersprüche; dazu herrscht eine Verwirrung der Begriffe, weil die Anatomen vielfach Physiologie und die Physiologen Anatomie betrieben haben, ohne sich immer der Grenzen ihrer Disziplin bewußt zu bleiben. Ferner standen wir vor der Schwierigkeit, daß es bei Operationen im Bereiche des Herznervengeflechtes nicht möglich ist, einzelne Nerven vor dem Durchschneiden herauszusuchen und daß überdies Variationen häufig sind.

Wir gingen deshalb so vor, daß wir ein topographisches Schema der Brustnerven anlegten und den ganzen, in Betracht kommenden Bezirk in Felder zerlegten, durch die dann regionäre Schnitte geführt wurden, um festzustellen, was sich alles durchschneiden läßt, bis die Drucksenkung nach der Injektion von Veratrin ausbleibt; dabei kam uns zustatten, daß sich die Veratrinwirkung häufig in eine Drucksteigerung verkehrt, sobald die Entnervung vollständig ist. Bei schrittweisen Durchschneidungen kann man beobachten, daß die Drucksenkung schwächer wird und der Blutdruck wie unter dem Wettstreite gegensätzlicher Einflüsse hin und her schwankt, bis plötzlich, wenn die letzte Verbindung durchbrochen wird, eine reine Drucksteigerung zum Vorschein kommt; so sahen wir gelegentlich die drucksenkende Wirkung des Veratrins nur mehr an einem Faden hängen.

Die Durchschneidungen wurden in der Regel einseitig gemacht und der Vagus der Gegenseite durch Kühlung ausgeschaltet; durch Erwärmung dieses Vagus konnte die intakt gelassene Seite zur Kontrolle zugeschaltet und so geprüft werden, wie weit der Apparat jeweils noch reaktionsfähig

[1] Bezold, A. v., u. L. Hirt: Unters. a. d. physiol. Laboratorium in Würzburg **1**, 95 (1867). — [2] Cramer, W.: J. Pharmacol. (Am.) **7**, 63 (1915).

war. Zumeist kühlten wir vor der Injektion des Veratrins überhaupt beide Vagi und erwärmten erst eine halbe Minute später auf der zu prüfenden Seite; so waren wir sicher, daß die eintretende Drucksenkung wirklich durch den im Vagus geleiteten Reflex bedingt war. Die Versuche wurden ausschließlich an Katzen angestellt und die allgemeine Methodik war die gleiche wie in der vorhergehenden Mitteilung.

1. Wertigkeit der beiden Vagi.

Wenn man beide Halsvagi durch Kälte blockiert, das Veratrin injiziert und nach etwa 30 Sekunden beide oder auch nur einen Vagus erwärmt, dann tritt der Drucksturz mit der Pulsverlangsamung ein. Wir verglichen nun ihr Ausmaß, wenn beide oder auch nur ein Vagus ausgeschaltet wurden oder wenn zum rechten Vagus der linke, oder umgekehrt zum linken der rechte ausgeschaltet wurde. Dabei zeigte sich, daß schon ein Vagus allein genügt, um eine hochgradige Blutdrucksenkung auszulösen und daß die Wirkung nur wenig stärker ausfällt, wenn beide Vagi leiten; ferner zeigte sich, daß die Freigabe des rechten Vagus immer stärker den Puls verlangsamte als die des linken; dies erklärt sich aus dem Umstande, daß im Vagus ja nicht nur die afferente Bahn des Veratrinreflexes geleitet wird, sondern auch die efferente für den Reflexerfolg im Herzen[3] und daß, wie bekannt, der rechte Vagus den Herzschlag immer stärker verlangsamt wie der linke. Was die Drucksenkung anlangt, so wurde diese, um den Einfluß der Bradykardie auszuschalten, nach Atropin geprüft; dabei erwiesen sich beide Seiten ungefähr gleichwertig; manches Mal schien die linke Seite stärker wirksam zu sein, wobei daran zu erinnern ist, daß Bayliss[4] bei der Reizung der Aortennerven ebenfalls gelegentlich vom linken eine stärkere Blutdrucksenkung erhielt.

2. Sympathicus.

Die Entfernung des Ganglion stellatum mit dem Grenzstrange bis zum vierten Brustganglion auf beiden Seiten beeinflußte die blutdrucksenkende Wirkung des Veratrins nicht. Das war zu erwarten, da ja der Veratrinreflex im Halsvagus unterbrechbar ist.

3. Aortennerven.

Die Aortennerven und ihre epithelialen Anhänge (Glomus aorticum) sind an der reflektorisch über den Vagus drucksenkenden Wirkung des Veratrins nicht beteiligt, denn es bleibt diese aus oder verkehrt sich ins Gegenteil, wenn die Aortennerven intakt gelassen, alle anderen Nerven aber durchschnitten worden sind. Diese Durchschneidung ist einfach und sicher ausführbar, denn man braucht nur die Vagi zu durchschneiden wo sie die A. subclavia kreuzen, wobei man noch zur Sicherheit die Felder rechts vom Truncus brachiocephalicus und links von der A. subclavia sin. ausräumt

[3] Jarisch, A., u. H. Richter: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 347 (1939). — [4] Bayliss, W. M.: J. Physiol. (Brit.) **14**, 303 (1893).

(Abb. 1). Dann funktionieren die Aortennerven noch unverändert, wovon man sich leicht überzeugen kann, indem man die Halsnerven kühlt, denn es steigt dann der Blutdruck als Zeichen dafür, daß erst damit die Aortennerven unterbrochen werden. In diesem Zustande senkt nun das Veratrin den Blutdruck nicht mehr. Umgekehrt wirkt aber das Veratrin unverändert, wenn man die Aorta und die Wurzeln der großen Gefäße ausschält, wobei auch die Glomus aortae, die man bei mageren Tieren als gelblichrote spinnenförmige Gebilde zu Gesicht bekommt, zerstört werden.

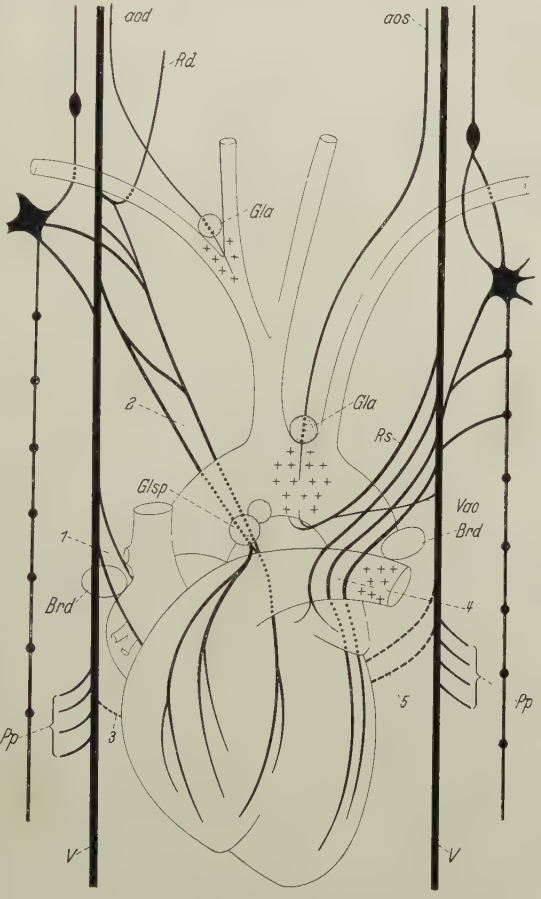


Abb. 1. Schema der Herznerven bei der Katze. — 1 In der Höhe der V. azygos vom Vagus gegen den rechten Vorhof ziehende Nervenstämme. — 2 Vom Ganglion stellatum, Vagus und Recurrens herabziehende Gruppe von Nerven. — 3 u. 5. Im Bereiche des Plexus pulmonalis vom Vagus zum Herzen ziehende, funktionell erschlossene Verbindungen. — 4 Die A. pulmonalis kreuzende Nervenstämme. *V* = Vagus; aod, aos rechter und linker Aortennerv: *Rd* und *Rs* rechter und linker Recurrens; *Vao* = Aortenzweig des Vagus (Nonidez); *Gla* = Ganglion aorticum, *Glsp* = Ganglion supracardiale (Penitschka); *Brd* = Bronchialdrüsen; + histologisch nachgewiesene Receptorenfelder in der Wand der großen Gefäße.

In den älteren Abbildungen der Aortennerven sieht man den rechten Aortennerven bis zur Aorta hinab gezeichnet. Das ist unrichtig, denn er endet wie Muratori[5], Nonidez[6] sowie Watanabe[7] zeigten, an der Wurzel der rechten Subclavia, und zwar aus entwicklungsgeschichtlichen Gründen. Daß der bis zur Aorta ziehende Nervenstamm jener Zeichnungen kein Depressor ist, folgt auch aus den Versuchen von Hirota und Hashimoto[8]; sie reizten bei der Katze den dort verlaufenden Nervenstamm und erhielten in der Mehrzahl der Versuche Blutdrucksteigerungen, was sie veranlaßte, einen Aortennerven mit pressorischer Funktion anzunehmen.

Zum System der Aortennerven gehört auch die von Nonidez[6] „Aortic branch of the vagus" genannte Nervenverbindung, die vom linken Vagus unterhalb der Abzweigung des Recurrens

[5] Muratori, G.: Anat. Anz. **83**, 367 (1936). — [6] Nonidez, J. F.: Amer. J. Anat. **57**, 259 (1935). — [7] Watanabe, M.: Ber. Physiol. usw. **110**, 93 (1939). — [8] Hirota, S., u. K. Hashimoto: Tohoku J. exper. Med. (Jap.) **28**, 231 (1936).

entspringt und an die Unterseite des Aortenbogens zieht, wo sie mit sensiblen Receptoren endet (vielleicht entspricht diese Verbindung dem von Tschermak[9] erschlossenen „N. depressor inferior"). Wir fanden jenen Zweig immer (Abb. 1, *Vao*) und sahen ihn häufig ein Stück weit mit dem Recurrens verlaufen. Auch dieser Nerv ist am Veratrineffekte unbeteiligt, denn die Blutdrucksenkung bleibt aus, wenn man ihn schont und die Herznerven weiter caudal durchschneidet.

Aus diesen Versuchen ergibt sich somit, daß alle Bezirke der Aorta, in denen sensible Receptoren gefunden wurden, mit Einschluß des Glomus aorticum nicht der Ursprung des Veratrinreflexes sein können.

4. Lunge.

Da die Einatmung von Reizgasen nach Brodie und Russell[10] von den tieferen Lungenabschnitten aus vasomotorische Blutdrucksenkung und Pulsverlangsamung hervorruft und Cramer[2] den Ausgangspunkt der Kreislaufreflexe beim Veratrum viride in die Lunge verlegte, achteten wir besonders auf die Lunge; die folgenden Versuche beweisen jedoch, daß die Lunge keinen wesentlichen Anteil an der reflektorischen Blutdrucksenkung nach der Injektion von Veratrin haben kann.

1. Um die Lunge auszuschalten, haben wir nach Heymans[11] eine Lunge entfernt und dann den Vagus der Gegenseite blockiert. Danach war der Veratrineffekt unverändert. Wenn man in Anbetracht der vielen Anastomosen im Bereiche der Brustnerven[12] auch annimmt, daß einzelne afferente Fasern kreuzen, dann fällt doch auf, daß der Veratrineffekt in diesen Versuchen nicht einmal abgeschwächt war.

2. Um die Lungennerven abzuquetschen, legten wir der Reihe nach um jeden Hilus eine Ligatur, die kräftig zugezogen und nach einigen Minuten entfernt wurde; danach zeigten die Gebilde am Lungenhilus auch stets eine deutliche Schnürfurche. Trotzdem wirkte das Veratrin unverändert. Bei der bekannten Empfindlichkeit der depressorischen Nerven ist es doch unwahrscheinlich, daß ein wesentlicher Teil der Lungennerven der Unterbrechung entging.

3. Ferner durchschnitten wir den Vagusstamm zwischen dem Abgange der Herz- und Lungenäste, aber auch dies beeinflußte die Veratrinwirkung nicht. In diesem Falle müßte die Reflexbahn zur Gänze den Umweg über die Herznerven genommen haben.

Somit lassen die Versuche zwar nicht völlig ausschließen, daß in geringem Umfange depressorische Erregungen auch aus der Lunge kommen können, doch beweisen sie mit Sicherheit, daß der Hauptstrom der afferenten Erregung nicht aus der Lunge kommt, wie dies von Cramer angenommen worden war. Da die Veratrinwirkung unverändert auftritt, wenn man

---

[9] Tschermak, A. v.: Wien. med. Wschr. **1924**, 837 u. 1750; Med. Klin. **1925**, 995. — [10] Brodie, T. G., u. Russell: J. Physiol. (Brit.) **26**, 92 (1900). — [11] Heymans, C.: Arch. Sci. biol. (It.) **12**, 135 (1928). — [12] Permann, E.: Z. Anat. u. Entw.gesch. **71**, 382 (1924). — Braeucker, W.: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. **5**, 322 (1932).

den Vagus unter dem Herzen durchschneidet[3] bleibt nur mehr das Herz als Ursprungsort des Reflexes übrig.

5. Herznerven rechts.

Auf der rechten Seite lassen sich die Herznerven in drei für Durchschneidungsversuche geeignete Gruppen teilen.

1. Etwa 1 cm über dem Bogen der V. azygos zweigt vom Vagus ein kräftiger Nervenstamm ab, — mitunter sind es zwei Stämmchen (Abb. 1, $_1$) — der zwischen der V. azygos und dem rechten Hauptbronchus hindurch am inneren Pol einer Bronchialdrüse vorbei zum Herzen zieht, um sich in die Furche einzulagern, die der rechte Vorhof mit den rechten Pulmonalvenen bildet. Dieser Stamm wird in der Literatur wiederholt erwähnt und ist am schönsten in der Abb. 2 von Anufriew[13] (1 V. dex.) dargestellt. Er versorgt nach Anufriew den rechten Vorhof und führt auch zu dem von Nonidez[14] beschriebenen Rezeptorenfelde an der Mündung der großen Hohlvenen. Einen der Lage nach entsprechenden Zweig fand His[15] schon bei einem menschlichen Embryo von 19 mm Länge; er trennte sich vom Hauptstamm des Vagus in der Höhe des fünften Brustwirbels und zog zum Vorhofe (Abb. 36 und 37 Vhg).

Nach der Durchschneidung dieses Nerven (bzw. dieser Gruppe) verlangsamte die Faradisierung des Vagus am Halse den Herzschlag in unseren Versuchen nicht mehr; hingegen hatte Wooldridge[16] beim Hunde bei der Reizung der entsprechenden Zweige eine Pulsverlangsamung bekommen; sie enthalten also die efferenten, die Reizbildung hemmenden Vagusfasern. In einem unserer Versuche verschwand die Herzhemmung allerdings erst, nachdem das Gewebe unter der V. cava sup. zerstört worden war; es müssen also diesmal die efferenten Fasern schon höher oben den Vagus verlassen haben, was bei der bekannten Neigung der herzhemmenden Vagusfasern zum Vagabundieren (Roever[17], Hering[18], O'Leary, Heinbecker und Bishop[19] nicht überrascht.

Das Veratrin wirkt nach der Durchschneidung dieser Gruppe noch kräftig blutdrucksenkend (Abb. 2), es fehlt jedoch die Pulsverlangsamung, die der Blutdrucksenkung koordiniert ist, weil eben die Herzhemmungsfasern unterbrochen sind. Es gelingt also mit dieser Durchschneidung so wie mit dem Atropin den kardio-kardialen Reflex am efferenten Ende zu unterbrechen, wobei der kardio-vasculäre erhalten bleibt.

2. Eine zweite, für die Durchschneidung geeignete Gruppe von Nervenstämmen (Abb. 1, $_2$) zieht durch den Raum rechts von den großen Arterien (vgl. die schöne Abb. 2 von Anufriew[13]). Sie entspringen im Ganglion stellatum, vom Vagus und Recurrens, kommen hinter der V. cava sup.

[13] Anufriew, W. N.: Z. Anat. u. Entw.gesch. **86**, 639 (1928). — [14] Nonidez, J. F.: Amer. J. Anat. **61**, 203 (1937). — [15] His, jr. W.: Abh. sächs. Ges. d. Wiss. **18**, 1 (1893). — [16] Wooldridge, L.: Arch. Anat. usw. 1883, 522. — [17] Roever, G.: Zit. nach Koch: Selbststeuerung des Kreislaufs 1931, 39. — [18] Hering, H. E.: Pflügers Arch. **57**, 77 (1894). — [19] Bishop, G. H., P. Heinbecker u. J. O'Leary: Amer. J. Physiol. **109**, 409 (1934).

hervor und ziehen meist in Fett gehüllt neben der Trachea nach abwärts um hinter dem Aortenbogen zu verschwinden; meist ist es ein stärkerer und ein bis zwei schwächere Stämme, die auch von links Zuzüge erhalten. R. Boehm [20] bezeichnet den stärkeren Stamm als N. cardiacus dexter bzw. N. accelerator d., weil seine Reizung Herzbeschleunigung bewirkte; Lim [21] bezeichnete ihn als „Cardiac branch of recurrens and of vagosympathetic", v. Schumacher [22] nennt ihn Accelerator mit Wurzeln aus Vagus und Recurrens und Permann [12] beschreibt ihn übereinstimmend; Cannon, Lewis und Britton [23] nennen ihn „common cardiac nerv" und Anufriew [13] spricht vom „Geflecht auf der Trachea" (seine Abb. 3. 1V–6 SO, 6d); bei Braeucker [12] trägt die Gruppe die Bezeichnung „Rr. cardiaci inf." und Hirota und Hashimoto [8] hielten den Hauptstamm für

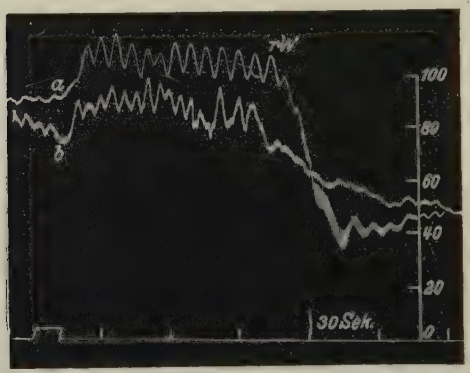


Abb. 2.
Katze, 2000 g, in Chloralosenarkose. Beide Vagi gekühlt; beim Zeichen werden 0,2 mg Veratrin injiziert und bei *rW* wird der rechte Vagus durch Wärmung freigegeben. Zwischen *a* und *b* wurden die Nerven der Gruppe 1 (Abb. 1) durchschnitten; danach tritt die Blutdrucksenkung ohne Pulsverlangsamung auf. Nach der Durchschneidung verlangsamte in diesem Versuche auch die Faradisierung des rechten Halsvagus den Pulsschlag nicht mehr.

ihren Aortennerven mit pressorischer Funktion. Der Hauptstamm zieht an der hinteren Fläche des Aortenbogens nach abwärts, gelangt in den Raum zwischen Aorta und Pulmonalis, kreuzt die Kranzfurche und verteilt sich dann mit mehreren Zweigen unter dem Epikard liegend nach Wooldridge [16], Lim [21], v. Schumacher [22] und Anufriew [13] über dem rechten Ventrikel, wobei er noch etwas über die vordere Längsfurche nach links greift (vorderer bzw. rechter Kammernerv).

Nach der Zerstörung dieser Nervengruppe durch Ausräumung des ganzen Bezirkes zwischen den großen Gefäßen, der Trachea und der Cava sup., verlangsamte die Faradisierung des rechten Halsvagus den Herzschlag unverändert; dem entspricht, daß, Boehm [20], Pawlow [24] sowie Cannon, Lewis und Britton [23] bei der Reizung des peripheren Stumpfes dieser Nerven keine Verlangsamung, sondern reine Sympathicuswirkungen erhielten; diese Gruppe enthält keine efferenten, herzhemmenden Vagusfasern, wohl aber den Herzsympathicus und wie wir feststellen konnten, den größten Teil der Bahn des Veratrinreflexes, denn nach ihrer

[20] Boehm, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **4**, 255 (1875). — [21] Lim, B. K.: J. Physiol. (Brit.) **14**, 467 (1893). — [22] Schumacher, S. v.: S. ver. Akad. Wiss. Wien. Math.-naturw. Kl. **111**, Abt. 3 (1902). — [23] Cannon, W. B., J. T. Lewis u. S. W. Britton: Amer. J. Physiol. **77**, 326 (1926). — [24] Pawlow, J.: Zbl. med. Wiss. **1883**, 21; **1885**, 23; Pflügers Arch. **20**, 210 (1879).

Zerstörung ist (bei gekühltem linken Vagus) die Blutdrucksenkung nach Veratrin beträchtlich abgeschwächt. Wird dazu noch unsere Gruppe 1 mit dem Vagus durchschnitten, dann wirkt das Veratrin blutdrucksteigernd (Abb. 3).

Bei dem Hisschen Embryo[15] entsprach dieser Gruppe ein zweites, höher oben im Bereiche des Bulbus aortae aus dem Vagus entspringendes Geflecht, das zwei Fortsätze gegen die Kranzfurche und die noch nervenlosen Kammern richtete (Abb. 37, Bg).

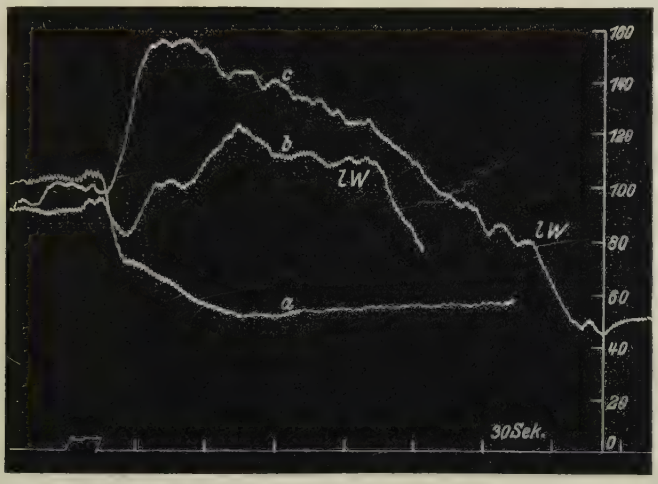


Abb. 3. Katze, 2200 g, in Chloralosenarkose. Beide Vagi über dem Zwerchfell durchschnitten, rechte Lunge entfernt, linker Halsvagus gekühlt, beim Zeichen 0,15 mg Veratrin. Zwischen *a* und *b* wurden die Nerven der Gruppe 2 (Abb. 1) und zwischen *b* und *c* die der Gruppe 1 durchschnitten, dabei verkehrt sich die drucksenkende Wirkung des Veratrins in die drucksteigernde. — Bei *lW* wurde der linke Vagus durch Wärmung freigegeben und dadurch eine reflektorische Drucksenkung über die linke Seite ausgelöst.

3. Wurden die Nervengruppen 1 und 2 durchschnitten, der Vagus jedoch geschont, dann erhielten wir nach Veratrin gelegentlich noch eine geringfügige Blutdrucksenkung. Barry[25] machte darauf aufmerksam, daß beim Hunde auch noch in der Höhe der Lungenwurzel aus dem Vagus Fasern entspringen können (Abb. 1, 3), und zwar links anscheinend häufiger als rechts, und auch Anrep[26] erhielt von dort bei der elektrischen Reizung eine Herzhemmung. Diese Angaben lehren somit, daß es auch noch unterhalb der bekannten Herznerven Verbindungen vom Vagus zum Herzen gibt, und damit wäre auch unser Befund geklärt. Allerdings entspringen in diesem Bezirke auch die Lungenzweige des Vagus und da es nicht möglich ist, die zum Herzen ziehenden Fasern zu durchtrennen, ohne den Plexus pulmonalis zu gefährden, war es uns nicht möglich, hier eine Entscheidung herbeizuführen.

Zusammenfassend ergibt sich somit aus den Durchschneidungsversuchen auf der rechten Seite: Die afferenten, den Veratrinreflex führenden

[25] Barry, D. T.: J. Physiol. (Brit.) **84**, 263 (1935). — [26] Anrep, G. V.: Lane Med. Lect.: Cardiovascular regulation, Oxford 1936, 41.

Fasern finden sich anscheinend im ganzen Fächer der Herznerven. Am stärksten sind sie jedoch in einer Gruppe vertreten, die keine pulsverlangsamenden Vagusfasern führen, mit Wurzeln aus dem Sympathicus, dem Vagus und Recurrens entspringen und zu einem Geflechte führen, das über dem rechten Ventrikel liegt und bis zur Herzspitze reicht.

6. Herznerven links.

Auf der linken Seite ist die Anordnung der Herznerven etwas anders wie rechts, weil durch die Lage der Aorta und den Verlauf des Recurrens der ganze Ursprung der Vagusäste herab — und auf eine kürzere Strecke zusammengedrängt ist. Dies brachte für unsere Durchschneidungsabsichten Schwierigkeiten mit sich, da die Vagusäste sich in engem Raume spitzwinkelig teilend ein Bündel bilden, in dem sich einzelne Fasern nicht aufsuchen lassen; immerhin ergaben sich folgende Feststellungen.

1. Wurde der linke Recurrens mit seinen Ästen durchschnitten, dann änderte sich der Veratrineffekt nicht; er blieb hingegen aus, wenn der Recurrens erhalten und die Herznerven zerstört worden waren. Somit spielt der Recurrens keine Rolle.

2. Topographisch eindeutig bestimmt ist eine Gruppe von Nerven, die ventral die linke Arteria pulmonalis im Bereiche der Umschlagstelle des Perikards rechtwinkelig kreuzt (Abb. 1, $_4$); unter ihnen findet sich der linke N. cardiacus e ganglio stellato, der in Boehms Versuchen[20] bei der Reizung Herzbeschleunigung ergab; er zieht in der Regel frei vom Ganglion herab und Permann[12] erwähnt, daß er gelegentlich Zweige aus dem Recurrens und Vagus aufnimmt. Die übrigen die Pulmonalis kreuzenden Nervenstämme kommen vom Vagus (Anufriew[13], Abb. 1: 2 v-s. sin., 3 v-s. sin.). Beim Hunde (Lim[21], Schurawlew[27]) und beim Kaninchen (Braeucker[12]) ist die Anordnung ähnlich. Diese Nerven ziehen im Bereiche der Marshallschen Perikardialfalte abwärts, geben Äste ab für den Vorhof, gelangen dann hinter das linke Herzohr, kreuzen den Sulcus coronarius und verlaufen in mehrere Äste geteilt unter dem Epikard des linken Ventrikels bis zur Herzspitze (hinterer Kammernerv nach Wooldridge[16], linker Kammernerv nach v. Schumacher[22]).

Wurden diese, die Pulmonalis kreuzenden Stämme durchschnitten, dann verlangsamte die Faradisierung des linken Halsvagus den Herzschlag nicht mehr. Bei der schrittweisen Durchschneidung der einzelnen Nerven ließ sich feststellen, daß die herzhemmenden Fasern am weitesten links über den extraperikardialen Teil der Pulmonalis ziehen. Da die in der Marshallschen Perikardialfalte verlaufende Vene der Cava superior entspricht, ergibt sich, daß die Herzhemmungsfasern links und rechts an homologen Stellen verlaufen.

Die blutdrucksenkende Wirkung des Veratrins verhielt sich nach der Durchschneidung dieser Nerven über der Pulmonalis wechselnd; einige Male fehlte sie ganz oder war stark abgeschwächt, in anderen Fällen schien

---

[27] Schurawlew, A. N.: Z. Anat. u. Entw.gesch. **86**, 655 (1928).

sie unverändert. Bei der schrittweisen Durchschneidung der die Pulmonalis kreuzenden Fasern gelang es uns zweimal, ebenso wie auf der rechten Seite, die efferente Bahn des Veratrinreflexes von der afferenten zu trennen, indem die Blutdrucksenkung erhalten war, die Bradykardie jedoch ausblieb.

3. Wie auf der rechten Seite, verlassen auch links noch weiter caudal Herznerven den Vagus im Bereiche des Plexus pulmonalis (Abb. 1, 5), denn Cannon, Lewis und Britton[23] mußten ihre Durchschneidungen bis dorthin ausdehnen, um das Herz völlig zu entnerven und Barry[25] erhielt von dort noch bei der elektrischen Reizung Herzhemmung.

Wie eben berichtet wurde blieb die Veratrinwirkung nach der Durchschneidung der Nerven über der Pulmonalis gelegentlich erhalten; sie verschwand dann erst, als der Vagusstamm mit dem Plexus Pulmonalis entfernt wurde und mußte daher in diesen Versuchen eine tiefere Bahn benutzt haben. Wir möchten uns aber mit den Angaben über den Verlauf der Bahn für den Veratrinreflex in diesem unübersichtlichen Winkel nicht festlegen, weil hier wie auch Cannon, Lewis und Britton, sowie Anufriew betonen, Variationen häufig sind und die Operationen oft durch den Umstand erschwert werden, daß die dort liegenden Bronchialdrüsen vergrößert gefunden werden und die Nerven gelegentlich mit ihrer Kapsel verwachsen.

Zusammenfassend ergibt sich somit, daß auch auf der linken Seite die afferenten Bahnen des Veratrinreflexes durch die Vagusäste ziehen und zwar auch in solchen, die keine Herzhemmungsfasern führen.

7. Unterbrechung des Veratrinreflexes vom Herzbeutel aus.

Da die Herznerven nach ihrem Übertritte auf das Herz unmittelbar unter dem Epikard liegen, prüften wir, ob sich der Veratrinreflex durch die Injektion nervenlähmender Stoffe in den Herzbeutel unterbrechen läßt.

Nach der Injektion von 1—10 mg Novocain in den Herzbeutel war die blutdrucksenkende Wirkung des Veratrins stark abgeschwächt bis fehlend. Die Faradisierung des Halsvagus verlangsamte den Herzschlag nicht mehr;

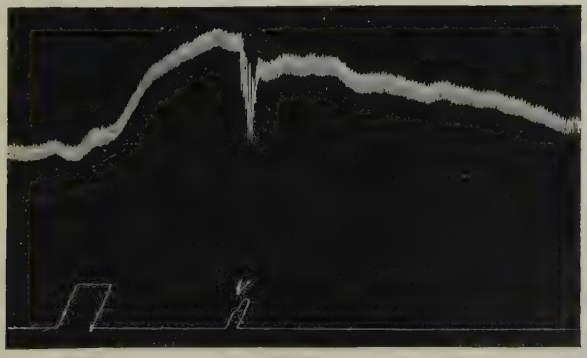


Abb. 4. Katze, 1600 g, in Chloralosenarkose. 10 Min. vorher waren 0,025 mg Veratrin in den Herzbeutel eingespritzt worden. Beim Zeichen 0,15 mg Veratrin intravenös; *V* = Faradisierung des rechten Halsvagus bei Rollenabstand 13 cm.

hier ist daran zu erinnern, daß nach Rothberger und Winterberg nach Bestreichen der Sinusgegend mit Cocain gleichfalls die Vagusreizung unwirksam wird.

Da das Veratrin äußerlich zu schmerzstillenden Einreibungen verwendet wird und nach v. Bezold[1], Boehm[20], Graham und Gasser[28] die Nervleitung unterbricht, spritzten wir es in den Herzbeutel ein. Danach war, Similia similibus, der drucksenkende Veratrinreflex in der Tat aufgehoben. In dem Versuche der Abb. 4 waren 0,025 mg Veratrin ins Perikard injiziert worden und danach bewirkte die intravenöse Injektion von 0,15 mg Veratrin eine Blutdrucksteigerung, wobei die Hemmungswirkung des Vagus bei elektrischer Reizung am Halse unverändert erhalten geblieben war.

8. Unterbrechung unter der Kranzfurche.

Da die Durchschneidungsversuche gezeigt hatten, daß der Veratrinreflex vorwiegend in Nerven geleitet wird, die von den Ventrikeln kommen, waren wir gespannt, was passieren würde, wenn man die Kammernerven unter den Vorhöfen unterbricht.

1. Wir bestrichen die Vorhöfe mit Eiklar, hoben das Herz an der Spitze auf, trockneten das Epikard ab und zogen mit Acidum carbolicum liquefactum ein 1 cm breites Band um die Herzbasis, knapp unter der Kranzfurche; danach wurde reichlich mit Eiklar und Kochsalz gespült. Nun war der Veratrinreflex nahezu verschwunden; wurde das Herz nur über der rechten Kammer karbolisiert, dann fiel der Blutdruck nach der intravenösen Injektion des Veratrins nur mäßig und stieg an, sobald der linke Vagus durch Kälte blockiert wurde. Die Faradisierung des Halsvagus verlangsamte in einem Teil dieser Versuche den Pulsschlag unverändert, in einem anderen war der Vagus „scheinbar" gelähmt, denn der Karbolreiz weckt die Automatie tieferer Zentren und diese gehorchen dem Vagus nicht; dennoch war der Vagus durch die Karbolisierung der Kammern nicht völlig unwirksam geworden, denn bei der Betrachtung des Herzens konnte man feststellen, daß sich die Vorhöfe während der Faradisierung des Halsvagus infolge der negativ inotropen Wirkung aufblähten. Daß die Karbolbehandlung der Herzoberfläche die Zentren in der Medulla nicht etwa resorptiv geschädigt hatten, davon überzeugten wir uns durch Prüfung des Carotissinusreflexes bzw. durch Reizung der Aortennerven.

2. Wir schlugen das Herz in einen Gazestreifen ein und tränkten ihn mit $^1/_2$—$1^1/_2$ ccm 0,05—0,1 $^0/_{00}$iger Veratrinlösung. Diese Prozedur bewirkte an sich eine mäßige Blutdrucksteigerung, die intravenöse Injektion des Veratrins wurde aber fortschreitend schwächer (Abb. 5). Die Faradisierung des Halsvagus wirkte weiter und unverändert verlangsamend.

Daß die Anästhesierung der Kammeroberfläche so überraschend stark wirksam ist, kann man verstehen, denn die Kammernerven verzweigen sich unmittelbar unter dem Epikard in feinste Äste und Fäserchen, ehe sie sich ins Myokard einsenken und diese sind der Wirkung des Anästhe-

[28] Graham, H. T., u. H. S. Gasser: J. Pharmacol. (Am.) **43**, 163 (1931).

ticums fast unmittelbar ausgesetzt. Quantitativ ist die Unterbrechung des Veratrinreflexes von der Kammeroberfläche aus nicht so vollständig, wie bei der Entnervung des ganzen Herzens, denn wir erhielten in der Regel noch geringe Blutdrucksenkungen und niemals Drucksteigerungen. Das kann daher kommen, daß entweder Receptoren für die Veratrinwirkung im Vorhofe sitzen oder daß — was aber wenig wahrscheinlich ist — die sensiblen Endigungen, die Takino[29] im Wurzelgebiete der A. pulmonalis fand, ansprechen oder daß schließlich aus dem Ventrikel stammende Fasern so tief liegen, daß sie bei unserem Vorgehen nicht unterbrochen wurden. Wir wollen uns in der Frage, in welchem Umfange der Veratrinreflex aus

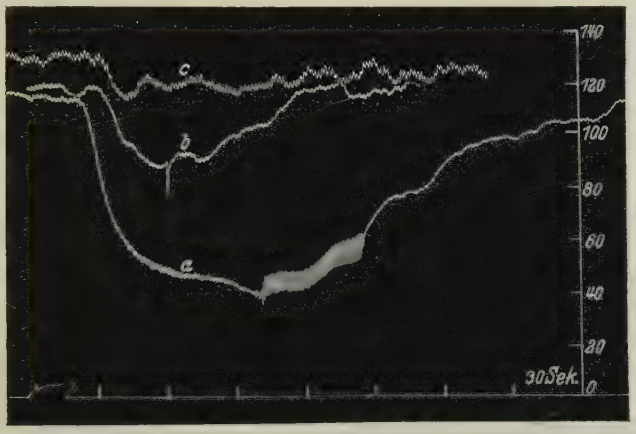


Abb. 5. Katze, 3400 g, in Chloralosenarkose. Ventrikel unter der Kranzfurche in ein Gazesäckchen eingehüllt; beim Zeichen 0,1 mg Veratrin intravenös. Zwischen *a* und *b* wurden 0,75 ccm einer 0,05‰igen und zwischen *b* und *c* 1,5 ccm einer 0,1‰igen Veratrinlösung auf die Ventrikel aufgetropft.

den supraventriculären Abschnitten des Herzens stammt, noch nicht festlegen und einstweilen nur vermerken, daß die Hauptmenge der den Veratrinreflex leitenden Fasern so verläuft, daß sie über den Ventrikeln vom Epikard aus unterbrochen werden können; der Reflex muß somit in der Hauptsache aus dem Kammerabschnitte des Herzens kommen.

Schließlich sei noch erwähnt, daß es auch gelingt, die Blutdrucksenkung und die Bradykardie nach der Injektion von Mistelextrakten bzw. des aus der Mistel von Winterfeld[30] isolierten und auf das Herz wirkenden Stoffes durch äußerliche Behandlung der Herzoberfläche mit Novocain oder Veratrin prompt zu beheben.

Besprechung der Ergebnisse.

Die Versuche ergaben über den Verlauf der afferenten Nerven für den blutdrucksenkenden Veratrinreflex folgendes:

Sie verlaufen nicht in den Aortennerven und im Sympathicus, denn die Veratrinwirkung änderte sich nicht, wenn die Aorta entnervt und der

[29] Takino, M.: Acta Scholae med. Kyoto **15**, 303, 308, 321 (1932). — [30] Winterfeld, K.: Scientia pharmac. (Wien. pharmaz. Wschr.) **1938**, 105.

thorakale Sympathicus entfernt wurde, blieb jedoch aus, wenn die Innervation der Aorta und der Sympathicus geschont, aber die Herznerven durchschnitten wurden. Sie verlaufen im Vagus und zwar vorwiegend in jenen Herzästen, die keine Herzhemmungsfasern führen und zusammen mit Sympathicusfasern als sogenannte Kammernerven bis zur Herzspitze ziehen.

Was weiß man von diesen Nervenzweigen sonst? Welche Funktionen haben sie?

Wooldridge[16] durchschnitt beim Hunde die Kammernerven an der Kranzfurche und reizte ihren peripheren Stumpf; der Erfolg war meist negativ, nur zweimal stieg der Blutdruck etwas an. Dies erklärt sich durch die positiv inotrope Wirkung der mitgereizten sympathischen Fasern, wie sie auch Pawlow[24], sowie Rothberger und Winterberg[31] erhielten, als sie diese Stämme in ihrem extrakardialen Verlaufe reizten. Es entspricht auch der Tatsache, daß die Frage, in welchem Umfange der Vagus überhaupt auf die Kammern wirkt, noch nicht restlos geklärt ist.

Beim Zerren der unverletzten Kammernerven sah Wooldridge Zuckungen in zahlreichen Muskeln und Langley[32] erhielt motorische Reflexe bei der elektrischen Reizung der Herzoberfläche. Bei unseren motorisch übererregbaren Chloralosekatzen beobachteten wir gleichfalls Zuckungen in den Brustmuskeln beim Operieren an den Herznerven und wir benutzen sie sogar, um durch Zerren fraglicher Gewebsbrücken festzustellen, ob noch „was Sensibles" drin war. Diese Beobachtungen lehren, daß die Herznerven afferente Verbindungen selbst zum Rückenmark haben.

Über Reflexe auf den Kreislauf von den Kammernerven aus ist Folgendes bekannt: Wooldridge[16] reizte auch den zentralen Stumpf, der an der Kranzfurche durchschnittenen Kammernerven und erhielt lebhafte Kreislaufreaktionen, allerdings ohne Gesetzmäßigkeit; der Blutdruck stieg oder fiel und das Herz schlug dabei rascher, langsamer oder auch unverändert. Katz und Saphir[33] tasteten mit Elektroden die Vorderfläche der Aorta und Pulmonalis ab und erhielten Blutdrucksteigerungen von der Gegend des Ganglion supracardiale (Penitschka); dort verläuft aber der rechte Kammernerv zwischen Aorta und Pulmonalis und mußte von Stromschleifen erreicht worden sein. Er zieht dann weiter nach aufwärts bis in die Gegend der rechten A. subclavia; hier haben ihn (oder einen seiner Zweige), wie aus den Angaben ohne Zweifel hervorgeht, Hirota und Hashimoto[8] gereizt und da sie Blutdrucksteigerungen erhielten und über seinen Ursprung nicht im klaren waren, für einen Aortennerven mit pressorischer Funktion gehalten. Auch Mc Dowall[34] berichtet über Blutdrucksteigerungen bei der Reizung eines gegen die Subclavia ziehenden Nervenstammes. Brodie und Russell[10] reizten die zentralen Stümpfe der Herznerven, wobei sie die Kammernerven in ihrem extrakardialen Ver-

[31] Rothberger, C. J., u. H. Winterberg: Pflügers Arch. **135**, 506 (1910). — [32] Langley, J. N.: Lancet **2**, 995 (1924); vgl. auch Gilbert, E.: Pflügers Arch. **129**, 329 (1909). — [33] Katz, L. N., u. O. Saphir: Amer. J. Physiol. **104**, 253 (1933). — [34] Mc Dowall, R. J. S.: J. Physiol. (Brit.) **83**, 37 P. (1934).

laufe mitreizten und erhielten die gleichen Ergebnisse, wie Wooldridge[16] bei der Reizung der Kammernerven an der Kranzfurche; ihre Abb. 2 zeigt eine Blutdrucksenkung mit Pulsverlangsamung bei der Reizung eines Nervenstammes, der den Angaben nach zu unserer Gruppe 2 (Abb. 1) gehört haben muß. Ferner suchten Heymans, Bouckaert und Jongbloed[35] nach vasomotorischen Reflexen im Bereiche der Herznerven; sie erhielten vom Vagusstamme unterhalb des Herzens nichts, von der Strecke zwischen dem Abgange der Lungen- und der Herzäste gelegentlich eine unbedeutende Blutdrucksteigerung und von den Herzästen selbst Blutdrucksenkung oder, und zwar häufiger, Blutdrucksteigerungen. Bishop, Heinbecker und O'Leary[19] stellten, wenn wir ihre Arbeiten richtig verstanden haben, mit histophysiologischen Methoden in den zum Herzen ziehenden Vagusästen somatische Fasern mit depressorischer Funktion fest, die sich von den Depressorfasern der Aortennerven durch Querschnitt und Reizschwelle unterschieden; auch Fasern vom Typus der Schmerznerven konnten sie nachweisen.

Auch wir reizten die zentralen Stümpfe der Herznerven und erhielten die gleichen Ergebnisse wie Brodie und Russel, sowie Heymans und seine Mitarbeiter, nämlich in der Regel Blutdrucksteigerung, gelegentlich aber auch kräftige Blutdrucksenkungen, beides mit Veränderungen der Schlagzahl. Es ist somit sicher, daß von jenen Nerven, die nach unseren Feststellungen die afferente Bahn des Veratrinreflexes führen, bei der elektrischen Reizung Kreislaufreflexe erhalten werden können. Daß der Reizerfolg so verschieden ausfällt ist verständlich, denn es handelt sich nach Bishop, Heinbecker und O'Leary um gemischte Nerven, die pressorische und depressorische Fasern verschiedener Erregbarkeit und auch in wechselnder Zahl enthalten.

Nunmehr soll erörtert werden, was von Kreislaufreflexen, die vom Herzen ausgehen, bekannt ist.

Die Durchschneidung des Halsvagus bewirkt in der Regel eine Blutdrucksteigerung mäßigen Grades. Henze[36] zeigte, daß dies nicht von der Unterbrechung mitlaufender Fasern der Aortennerven kommt, denn es steigt der Druck auch und sogar stärker, wenn die Aorta vorher im Thorax entnervt wurde. Am stärksten steigt der Druck bei der Blockierung der Halsvagi, wenn außer den Aortennerven auch noch der Carotissinus ausgeschaltet wurde und es ist dann so, als ob ein letzter hemmender Zügel für den Blutdruck wegfiele. Auch Green, Degroat und Mc Donald[37] schlossen aus ihren Durchschneidungsversuchen auf einen afferenten, depressorischen Tonus in den Herzästen des Vagus. Daly und Verney[38] brachten es zuwege, den Druck in der linken Kammer zu steigern ohne ihn im Aortenbogen zu verändern und bekamen dabei eine Verlangsamung des

[35] Heymans, C., J. J. Bouckaert u. J. Jongbloed: Arch. internat. Pharmacodynam. **53**, 265 (1936). — [36] Henze, C.: Arch. internat. Pharmacodynam. **53**, 44 (1936). — [37] Green, M. F., A. F. Degroat u. C. H. Mc Donald: Amer. J. Physiol. **110**, 513 (1934). — [38] de Burgh Daly, I., u. E. B. Verney: J. Physiol. (Brit.) **61**, 268 (1926).

Herzschlages. Rubino[38a] erhielt Depressorreflexe nach Einspritzung von Alkohol ins Myocard. Diese Beobachtungen lehren somit, daß vom Herzen hemmende Einflüsse auf die Zentren ausgehen oder zum mindesten ausgehen können.

Andererseits fand Mc Dowall[39] in Bestätigungen älterer Beobachtungen von Pawlow[24], daß der Blutdruck nach der Vagotomie auch fallen kann, und zwar dann, wenn der Kreislauf durch Blutverlust, Alkohol, Histamin und dgl. geschädigt ist: er nahm einen „Vagopressoreflex" an, der einsetzt, sobald der Druck in den zentralen Venen fällt und der die Aufgabe hat, durch Tonisierung des Vasomotorenzentrums zu verhindern, daß beim Schock der Kreislauf gleich völlig zusammenbricht. Reed und Layman, sowie Reed[40] bestätigten, daß bei schlechtem Kreislauf die Vagotomie den Blutdruck häufig senkt, sahen dies aber auch bei gutem Kreislauf und wollen daher keine gesetzmäßige Abhängigkeit von Schockbedingungen gelten lassen. Dem entsprechen auch unsere Erfahrungen; bei unseren zahlreichen Ausschaltungsversuchen sahen wir im Laufe der letzten Jahre den Blutdruck nach der Blockierung der Halsvagi manchesmal auch abfallen und zwar meist gegen Ende der Versuche, wenn der Kreislauf bereits gelitten hatte. Zu dieser Zeit war aber in unseren Versuchen der Druck in den zentralen Venen durchaus nicht erniedrigt, sondern infolge der einsetzenden Herzschädigung bereits im Ansteigen. Abb. 6 zeigt eine solche Beobachtung: der arterielle Druck fällt bei der Kühlung der Halsvagi und der Cavadruck, der schon 5 mm H_2O über dem Ausgangswerte liegt, steigt etwas an, wie man dies bei dem Wirksamwerden depressorischer Reflexe sieht. Im ganzen sahen wir die Drucksenkung nach der Blockierung der Halsvagi jedoch selten und können nicht angeben, unter welchen Bedingungen sie auftritt.

Abb. 6. Katze, 2200 g, in Chloralosenarkose. Oben Druck in der Cavasup. (die Ziffern geben die Abweichungen vom Ausgangswerte in mm H_2O an), dann Lebervolumen, unten Druck in der Carotis. In der zweiten Stunde des Versuches und nach verschiedenen Eingriffen bewirkt hier die Blockierung beider Halsvagi durch Kühlung *K* ausnahmsweise einen Druckabfall; *W* = Wärmung.

[38a] Rubino, A.: Fol. med. (Napoli) **1937**, Nr. 21. — [39] Mc Dowall, R. J. S.: J. Pharmacol. (Am.) **25**, 289 (1925); J. Physiol (Brit.) **81**, 5 P. (1934); The control of the circulation, London 1938, 39. — [40] Reed, C. I., u. J. A. Layman: Amer. J. Physiol. **72**, 275 (1924); C. I. Reed: Ebenda **74**, 61 (1925).

Dann ist noch der Bainbridge-Reflex zu berücksichtigen. Drucksteigerung und Dehnung im Mündungsbereiche der großen Herzvenen beschleunigen den Herzschlag; die afferente Bahn des Reflexes verläuft im Vagus. Nonidez[14] fand auch in den in Betracht kommenden Bezirken ausgedehnte Felder mit sensiblen Receptoren, die rechts von einem unserer Gruppe 1 (Abb. 1) entsprechenden Vagusaste versorgt wurden. Dem Bainbridge-Reflex wird die Aufgabe zugewiesen, bei drohender venöser Stauung die Schöpfleistung des Herzens durch Beschleunigung des Herzschlags zu erhöhen[26]. Unsere Veratrinwirkung kann als aktive Hemmungswirkung nichts mit jenem Reflexe zu tun haben; zudem ist sie ja noch unter der Kranzfurche im Bereiche der Herzkammern zum größten Teil blockierbar.

Es zeigt sich also, daß eine ganze Reihe von Kreislaufreflexen bekannt sind, die vom Herzen ausgehen*. Wenn auch ihr Mechanismus derzeit noch alles eher als durchsichtig ist so ist für unsere Frage doch festzustellen, daß es einen kardiogenen Reflex gibt, der den Blutdruck senkt und den Puls verlangsamt; über diesen muß irgendwie das Veratrin wirken.

Nun soll erörtert werden, welche Strukturen als Receptoren für den Veratrinreflex in Betracht kommen, wo also das Veratrin schließlich angreift.

Man könnte zunächst denken, daß es im Kammerabschnitte des Herzens Chemoreceptoren gibt, ähnlich denen im Glomus caroticum, zumal von diesen aus durch OH-Ionen (Heymans, Bouckaert und Regniers[41]), K-Ionen (Hauss und Shen[42]) und selbst unter Umständen durch Veratrin[3] Blutdrucksenkung und Pulsverlangsamung ausgelöst werden kann. Dagegen spricht aber unseres Erachtens Folgendes: 1. Vom Glomus caroticum aus ist die Veratrinwirkung höchstens zwei- bis dreimal auslösbar und dann wird der Apparat refraktär, der kardiogene Veratrinreflex ist jedoch, wenngleich er bei wiederholten Injektionen auch schwächer wird, doch bis in die letzten Versuchsstadien hinein noch zu erhalten, wenn nicht ganz große Dosen gegeben werden. 2. Der Receptorenapparat im Glomus caroticum gehört zu einer histologisch wohl charakterisierten, den Paraganglien zugeordneten Struktur[43] und derartiges wurde im Kammerabschnitte des Herzens noch nicht gefunden, denn auch das Wieselsche Coronarganglion[44] liegt noch im Vorhofe. Aber selbst wenn in der Zukunft

* Heymans und seine Mitarbeiter [41] gebrauchen den Ausdruck „Zone reflexogene cardio-aortique" und fassen damit Herz und Aortenbogen, was den Ursprung von Kreislaufreflexen anlangt als funktionelle Einheit zusammen; so berechtigt dies in mancher Hinsicht im ganzen ist, so notwendig machen es unsere Befunde, Herz und Aorta als zwei Zonen relativer Selbstständigkeit aufzufassen und darum beschränkten wir uns darauf, aus dem Schrifttum nur jene Arbeiten herauszugreifen, die allein das Herz als Ausgangspunkt von Kreislaufreflexen erscheinen lassen. Vgl. hierzu auch W. R. Hess: Regulierung des Blutkreislaufes. Leipzig 1931.

[41] Heymans, C., J. J. Bouckaert u. P. Regniers: Le Sinus carotidien et la zone homologue cardioaortique, Paris 1933; Heymans, C., u. J. J. Bouckaert: La sensibilité réflexogéne des vaisseaux aux excitants chimiques. Paris 1934; Erg. Physiol. usw. **41**, 28 (1939). — [42] Hauss, W., u. T. C. R. Shen: Arch. internat. Pharmacodynam. **62**, 411 (1939). — [43] Heymans, C., u. J. J. Bouckaert: Erg. Physiol. usw. **41**, 28 (1939); M. Watzka u. W. Penitschka: Z. mikrosk.-anat. Forsch. **30**, 29 (1932); F. Palme: Ebenda **36**, 391 (1934); H. Seto: Z. Zellforsch. usw. **22**, 213 (1935). — [44] Wiesel, J.: Wien. klin. Wschr. **1906**, S. 723.

auch noch in den Kammern Paraganglien aufgefunden würden, dann dürfen diese nicht als Angriffspunkt des Veratrins gelten, denn unsere im Abschnitt 3 beschriebenen Versuche beweisen mit Sicherheit, daß das typisch gebaute Glomus aorticum bei unserer Versuchsanordnung nicht auf Veratrin anspricht und auch das Glomus supracardiale (Penitschka) kann wie aus Abschnitt 8 folgt, nicht besonders aufs Veratrin reagieren; wenn aber die über der Kranzfurche gelegenen Paraganglien nicht auf Veratrin ansprechen, warum sollten es dann etwa im Ventrikel liegende tun? 3. Herr Professor Goormaghtigh hatte die Freundlichkeit uns mitzuteilen, daß er bei der Katze unter dem Epikard der Vorhöfe verstreut zahlreiche kleine, typische Paraganglien aufgefunden hat[45]; bei unseren Versuchen mit äußerlicher Behandlung des Herzens mit Veratrin (Abschnitt 7) hätten diese ansprechen müssen, falls überhaupt paraganglienartige Elemente der Angriffspunkt des Veratrins wären, doch erhielten wir von der Oberfläche des Herzens niemals Drucksenkungen, sondern nur Drucksteigerungen bzw. Unterbrechung des nach der intravenösen Injektion auftretenden Veratrinreflexes.

Ferner kann ausgeschlossen werden, daß sensible Endigungen vom Typus der Pressoreceptoren im Carotissinus und Aortenbogen, die man etwa im Verzweigungsgebiete der Coronarien vermuten könnte auf das Veratrin ansprechen, denn es ergibt sich, daß das Veratrin auf Receptoren jener Art keinen Einfluß hat; in Versuchen die der eine von uns im Genter pharmakologischen Institute ausführen konnte, war nämlich die Injektion von Veratrin in den Carotissinus unwirksam, wenn die Gefäße des Glomus caroticum embolisiert worden waren und es blieb ferner, wie im 3. Abschnitt dieser Mitteilung gezeigt wurde, der Veratrineffekt vollständig aus, wenn die Innervation der Aorta intakt gelassen, aber die Herznerven durchschnitten worden waren. Dazu kommt noch, daß man im Verzweigungsgebiete der Coronarien wohl überhaupt kaum Manometernerven für die Regulierung des Gesamtkreislaufes erwarten darf, weil die Coronarien eine beträchtliche Eigenkontraktilität besitzen und sich in ihnen das arterielle Druckgefälle bereits stark auswirkt.

Somit bleibt als Angriffspunkt für das Veratrin nur mehr das Epi-, Myo- und Endokard übrig. Das Epikard ist, wie wir der Zusammenstellung von Stöhr[46] entnehmen, überreich an sensiblen Endigungen der mannigfaltigsten Art und de Waele und van de Velde[47] diskutierten bereits einen herzhemmenden Reflex, der von der Oberfläche des Herzens seinen Ausgang nehmen soll; wir glauben aber nicht, daß man jene Endapparate mit dem Veratrinreflex in Zusammenhang bringen darf, denn wir haben die ganze Oberfläche des Herzens mit Veratrinlösungen, angefangen mit den stärksten Verdünnungen behandelt und niemals etwas gesehen, was nur irgendwie an die so ausgesprochenen Folgen der intravenösen Veratrininjektion erinnert hätte (Abschnitt 7 u. 8). Wir wandten dabei Konzen-

[45] Goormaghtigh, N.: Brux. med. 10. November 1935. — [46] Stöhr jr., Ph.: Handb. mikrosk. Anat. **1**, 313 (1928). — [47] de Waele, H., u. J. van de Velde: J. Physiol. (Brit.) **90**, 60 P. (1937).

trationen an, die in den Versuchen von Graham und Gasser[28] am Nerven und von Pick und Ishihara[48], sowie Goldenberg und Rothberger[49] an Purkinjefäden erregend wirkten und können daher sicher sein, daß die Herzoberfläche in unseren Versuchen nicht etwa stumm blieb, weil die Nervenapparate von vornherein gelähmt worden waren.

Am Myo- und Endokard sind wir aber an den Grenzen des Auflösungsvermögens unserer Versuche angelangt. Es soll daher nur mehr erwähnt werden, daß v. Bezold[1] sensible Endigungen im Endokard als Angriffspunkt des Veratrins betrachtete, während uns die synoptische Betrachtungsweise des Problems in der ersten Mitteilung[3] auf das Myocard geführt hatte, indem wir einen Sinn des vom Veratrin bespielten Apparates darin sahen, Dehnung und Spannung im Herzmuskel mit der Gesamtleistung des Herzens zu korrelieren. Wir dachten an eine Art Volumempfindlichkeit des Herzens und wollen jetzt nur noch darauf aufmerksam machen, daß eine solche auch den kleinen Kreislauf beherrschen muß, da wie sich aus den hier mitgeteilten Versuchen ergab, rechte und linke Kammer ziemlich selbstständig innerviert zu sein scheinen und mit ihren zentralen Verknüpfungen Einfluß auf den Zu- und Abstrom des Blutes zu den Brustorganen besitzen müssen.

Histologisch wurden im Endo- und Myokard, vorwiegend der Vorhöfe sensorische zum Vagus gehörige Nervenfasern und Endapparate von Smirnow[50], Woollard[51], Lawrentjew[52], Nonidez[14] und Schimert[53] beschrieben. Smirnow ist geneigt, ihnen eine depressorische Funktion zuzuschreiben und Nonidez betrachtet die in der Einflußbahn der Vorhöfe gefundenen Endigungen als Receptoren für den Bainbridgereflex. Unter den von Nonidez beschriebenen Strukturen fesseln unsere Aufmerksamkeit besonders die netzartig einzelne Muskelfasern umspinnenden Endapparate, da sie ihrem Bau nach dehnungsempfindlich sein könnten, und so gewissermaßen als Analoga zu den Muskelspindeln der Skelettmuskeln gelten dürfen. Goormaghtigh und Panier[54] fanden diese Strukturen in der ganzen Vorhofsmuskulatur der ausgewachsenen Katze. Ob es derartiges auch in den Kammern gibt?

Zusammenfassung.

Der Bezoldsche blutdrucksenkende Veratrinreflex nimmt seinen Ausgang vorwiegend vom Kammerabschnitte des Herzens; er wird afferent von den Herzästen des Vagus geleitet, und zwar besonders von solchen, die keine herzhemmenden Fasern führen.

Die Mittel für die Durchführung dieser Versuchsreihen wurden von der Asta A. G., Brackwede, zur Verfügung gestellt.

[48] Pick, E. P., u. M. Ishihara: J. Pharmacol. (Am.) **29**, 355 (1926). — [49] Goldenberg, M., u. C. J. Rothberger: Pflügers Arch. **238**, 137 (1937). — [50] Smirnow, A.: Anat. Anz. **10**, 737 (1895). — [51] Woollard, H. H.: J. Anat. (Brit.) **60**, 345 (1925). — [52] Lawrentjew, B. J.: Z. mikrosk.-anat. Forsch. **16**, 383 (1929). — [53] Schimert, J.: Z. Zellforsch. **27**, 246 (1937). — [54] Goormaghtigh, N., u. Panier: Persönliche Mitteilung.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Mailand
(Direktor: Prof. Dr. A. Valenti).

Entgegnung

auf die Arbeit „Untersuchungen über den Einfluß von Arsen- und Antimonverbindungen auf den Zuckerstoffwechsel“ von H.-A. Oelkers (Band 191, Heft 5—6 dieses Archivs).

Von

Prof. Celso Provinciali.

(Eingegangen am 5. Juni 1939.)

Oelkers schreibt in seiner obigen Arbeit über meine Versuche hinsichtlich des Wirkungsmechanismus der anorganischen Arsenpräparate: „Von Provinciali* wird angegeben, daß die einmalige Injektion einer kleinen Arsenikmenge (1 mg/kg) eine Senkung, die an mehreren Tagen nacheinander wiederholte Arsenikinjektion dagegen eine Erhöhung des Blutzuckerspiegels verursacht. Bei eigenen Versuchen ließ sich dieser Befund nicht bestätigen.“

Dem Leser meiner Abhandlung wird es sofort auffallen, daß die Besprechung Oelkers summarisch und ungenau ist, während aus seiner Arbeit nicht genau hervorgeht, ob Verfasser seine Kontrollversuche an Kaninchen (in seiner Veröffentlichung teilt Oelkers nur Versuche an diesen Tieren mit) oder auch an Hunden durchführte. Im ersten Fall hätte die Kontrolle keinen Wert, zumal auch, wie Verfasser selbst an anderer Stelle seiner Arbeit zugibt, die Kaninchen individuell sehr unterschiedlich reagieren und, wie ich hinzufügen möchte, einen im allgemeinen viel weniger konstanten Blutzuckerspiegel wie die Hunde haben und damit für sehr ins einzelne gehende Versuche wie die meinigen nicht geeignet sind.

Wir müssen also annehmen, daß Oelkers an Hunden experimentierte (was um so natürlicher wäre, als es sich um Kontrollversuche handelte), und daß Verfasser eine eingehende Auswahl traf, da, wie ich in meiner Abhandlung erklärte, auch bei Hunden nur sehr wenige einen so konstanten Blutzuckerspiegel aufweisen, daß sie sich für die in Rede stehenden Untersuchungen eignen. Nach der Art, wie sich Verfasser ausdrückt, scheint er zu Schlußfolgerungen gekommen zu sein, die sowohl hinsichtlich der von mir „fast“ stets nach der ersten Dosis beobachteten Hypoglykämie als auch hinsichtlich der Hyperglykämie, die vorübergehend nach den späteren Einzeldosen auftritt und während der Dauerverabreichung ständig zu beobachten ist, abweichen. Abgesehen von der Meinungsverschiedenheit über den ersten Punkt (Hypoglykämie nach der ersten Dosis), der auch für mich

---

* Provinciali, C.: Arch. ital. Sci. farmacol. **1**, 15 (1932).

nur geringen Wert hat, weil sein rasches Verschwinden auf den Wirkungsmechanismus der Arsenpräparate kein Licht wirft, so daß ich selbst ihm bei der Besprechung der eutrophischen Wirkung keinerlei Bedeutung beimesse, bleibt der zweite abweichende Punkt, die Veränderungen hyperglykämischer Natur nach den aufeinanderfolgenden Dosen, gerade das Kernproblem meiner Untersuchungen und Schlußfolgerungen. Es ist selbstverständlich und war zweifellos schon vor den Untersuchungen Oelkers und mir bekannt, daß toxische oder sonstwie sehr hohe Arsendosen eine deutliche Hyperglykämie hervorrufen. Da wir aber in unserem Laboratorium den Mechanismus der eutrophischen Wirkung des anorganischen Arsens zu klären versuchten, konnten wir natürlich die Untersuchungen mit sehr hohen oder sogar toxischen Dosen nicht für geeignet halten, weshalb es mir nützlich schien, besondere Versuche mit kleinen Dosen, „den einzigen, die in therapeutischer Hinsicht wirklich interessieren können", durchzuführen. In der Tat blieben nur zwei Möglichkeiten: Entweder zeigte sich keine Hyperglykämie mehr, und in diesem Fall konnte man im Kohlehydratstoffwechsel keinen Grund für den Arseneutrophismus mehr finden, oder es lag noch eine Hyperglykämie vor, die, wenn sie auch nicht so ausgesprochen war wie die mit hohen Dosen erzielbare, doch eine besondere Bedeutung haben konnte, hauptsächlich wenn sie nicht vorübergehend, sondern konstant gewesen wäre. Da dies eintrat, kann man m. E. nicht bezweifeln, daß ich einen, wenn auch nur bescheidenen, einwandfreien Beitrag zur Untersuchung des Determinismus der eutrophischen Wirkung des Metalloids ieferte.

Oelkers schließt aber seine Kritik mit den Worten: „Die genaue Durchsicht der von Provinciali mitgeteilten Versuchskontrolle zeigte im übrigen, daß die beobachteten Blutzuckerveränderungen ganz unerheblich waren und zum Teil sogar noch innerhalb der Fehlergrenze der benutzten Blutzuckerbestimmungsmethode lagen."

Verfasser macht also zwei Einwendungen gegen meine Arbeit: 1. daß er bei seinen Versuchen Veränderungen des Blutzuckerspiegels mit den von mir benutzten Dosen nicht feststellen konnte, 2. daß, selbst wenn er meine Ergebnisse hätte bestätigen können, die Blutzuckerveränderungen ganz unerheblich gewesen und zum Teil sogar noch innerhalb der Fehlergrenze der benutzten Methode gelegen wären.

Auf den ersten Einwand, daß meine Ergebnisse nicht bestätigt werden konnten, ist zu antworten, daß Verfasser, um ein einwandfreies Urteil über das Auftreten oder Nichtauftreten kleiner Veränderungen des Blutzuckerspiegels abgeben zu können, beweisen müßte, daß er alle die Fehlerquellen vermieden hat, die, so gering sie sind, einen schädlichen Einfluß auf die Untersuchungsbedingungen ausüben konnten.

Daß ich mich um all dies auf das eingehendste kümmerte, geht aus meiner Arbeit klar hervor. Ich habe nicht umsonst als Versuchstier den Hund gewählt, und zwar wegen der größeren Beständigkeit seiner Blutzuckerkurve und weil er ermöglicht, eine größere Blutmenge zu entnehmen,

ohne daß dies den Blutzuckerspiegel nachteilig beeinflußt, abgesehen davon, daß es der Genauigkeit der Entnahme und der Analyse nur zum Vorteil gereicht. Wie ich weiter oben ausführte, war ich nicht umsonst gezwungen, trotzdem die Versuche am Hund durchgeführt wurden, „an einer großen Anzahl Tiere meine Auswahl zu treffen, um eine genügende Menge Hunde für meine Versuche zur Verfügung zu haben"; nicht umsonst betonte ich die „besondere Bedeutung" dieser Behauptung, wenn es sich um Versuche wie die meinigen handelt, bei denen „man annehmen kann, daß die Blutzuckerveränderungen nicht besonders bedeutend sind". Ich verwandte ferner besondere Sorgfalt auf die Auswahl der Methode, wobei ich mich gegen die Bangsche entschied, „weil die von mir beobachteten Unterschiede im Verhalten des Blutzuckerspiegels meist innerhalb der Fehlergrenze lagen und, wie Bang selbst zugibt, bei seiner Methode die Möglichkeit von Fehlern besteht". Ich bediente mich der Crutoschen Methode, die bei „einer großen Anzahl von Probeversuchen sich als so genau und empfindlich erwies, wie ich dies benötigte". Ich wiederhole an dieser Stelle, daß bei dieser Methode 1 ccm anstatt $^1/_{10}$ ccm Blut entnommen wird, wodurch die Möglichkeit von Differenzen durch die Entnahme und das analytische Verfahren verringert werden; diese Differenzen konnten, so klein sie auch waren, ausreichen, um die kleinen, von mir beobachteten Veränderungen zu verdecken. Ich halte es auch für nötig hinzuzufügen, daß ich „für jede Blutzuckerbestimmung 2 anstatt 1 ccm Blut entnahm, da ich zum Zwecke einer genauen Kontrolle jedesmal zwei Analysen durchführte". Ich möchte hier die neuere Mikromethode Millers und van Slykes nicht kritisieren, da sie sich mir bei Nachprüfung mit der Crutoschen Methode, abgesehen von den seltenen Fällen mit sehr ausgeprägter Azotämie, als sehr genau erwies und für Versuche an Kaninchen wie die von Oelkers durchgeführten ohne weiteres vorzuziehen ist; wenn es sich aber wie bei meinen Versuchen um große Tiere handelt, bei denen man nicht darauf achten muß, so wenig wie möglich Blut zu entnehmen, glaube ich, daß von einer guten Mikromethode (Miller und van Slyke) und einer auch genauen Semimikromethode (Cruto) aus den angeführten Gründen stets der zweiten der Vorzug zu geben sei.

Was schließlich die anderen von mir zur Vermeidung jeder möglichen Fehlerquelle ergriffenen Vorsichtsmaßregeln anbetrifft, so waren sie so zahlreich, daß ihre Aufzählung hier zu weit führen würde; in meiner Arbeit selbst werden sie aber alle ausführlich beschrieben.

Welche Durchschnittswerte habe ich nun mit einer so genauen Untersuchungsmethode erzielt?

Bei einer Reihe von Hunden mit äußerst konstantem Blutzuckerspiegel, der in 8 Stunden durchschnittlich um 1,18 % sank, ließen die auf die erste Dosis folgenden Arsenverabreichungen den Blutzucker nach 8 Stunden um 13,73 % ansteigen. Bei der Dauerverabreichung zeigt der Blutzuckerspiegel während der Arsenbehandlung eine Erhöhung von durchschnittlich etwa 10 %; auch nach Absetzen der Arsenverabreichung hält der Anstieg

noch einige Tage an, wobei der genannte Durchschnittswert sogar deutlich überschritten wird.

Die Erscheinung tritt mit sehr großer Regelmäßigkeit auf; bei den wenigen Fällen, in denen die von mir erhaltenen Werte nicht durch deutlichere Ergebnisse bestätigt werden und wegen ihrer Geringfügigkeit zu Zweifeln Anlaß geben konnten, verfehlte ich nicht, dies bei der Besprechung der Versuchsergebnisse zu bemerken.

Erhöhungen um mehr als 10% kann man deshalb m. E. nicht übersehen, noch waren, wie ich in meiner Abhandlung schrieb, beträchtliche Blutzuckerveränderungen zu erwarten, wenn man berücksichtigt, daß es sich um die Verabreichung kleiner Dosen handelte. Oelkers muß deshalb die von mir nachgewiesenen Erhöhungen entweder strikte widerlegen — allerdings mit unter den gleichen Bedingungen wie die meinen durchgeführten Versuchen — oder er muß mir erklären, warum eine Erhöhung um mehr als 10% keine Rolle spielt. Ich behaupte deshalb nochmals, daß „von den von mir festgestellten Ergebnissen das hervorstechendste zweifellos die Erhöhung des Blutzuckerspiegels nach Verabreichung von Arsen selbst in kleiner Dosis ist. Die Erhöhung ist zwar nicht groß, aber — was wichtiger ist — anhaltend". Nach Verabreichung kleiner Einzeldosen „hält sie einige Stunden an, bei Dauerbehandlung ist sie, wenn auch gering, so doch geradezu beständig".

Meine Untersuchungen erinnern übrigens an den Befund van Dykes, der mit einer wenig über der von mir verwandten Dosis liegenden (1,9 mg NaOAsO pro kg, entsprechend 1,44 mg As_2O_3) eine sehr starke Erhöhung des Blutzuckerspiegels erzielte. Die Ergebnisse stehen auch zu denen Oelkers nicht im Widerspruch. Ich möchte nämlich daran erinnern, daß Oelkers selbst schon mit einer Dosis von 2 mg As_2O_3 pro kg (Tabelle 1, Nr. 4) einen Anstieg des Blutzuckerspiegels um 20% erzielte, wobei ich in Anbetracht der anderen Versuchsbedingungen ganz von der noch viel größeren Erhöhung (72%) absehen möchte, die mit der gleichen Arsendosis bei einem zuvor einige Tage lang einer Insulin-Traubenzucker-Therapie unterworfenen Kaninchen (Tabelle 3, Nr. 1) erzielt wurde. Wenn sie auch beim Kaninchen eintrat, so ist die vom Verfasser beobachtete Veränderung um 20% sicher nicht dazu angetan, daß man die von mir beim Hund, einem bekanntlich für das Metalloid besonders empfindlichen Tier, gefundenen kleinen Veränderungen einem Zufall oder der Methodik zuschreibt. Die von mir verwendeten kleinen Gaben sind sehr nahe an der Grenze der aktiven hyperglykämisierenden Dosis, was ich berücksichtigte, als ich die Vermutung aussprach, daß die erste Dosis, auf die bei meinen Hunden eine sehr leichte Hypoglykämie folgte, die Tiere mit Inversion der Erscheinung nur für die zweite Dosis sensibilisierte. Es ist aber ebenso sicher, daß nach den folgenden Dosen (einschließlich der zweiten) eine Hyperglykämie in einem solchen Ausmaß besteht, daß sie nicht abgeleugnet werden kann.

Dies alles läßt die Schlußfolgerung zu, daß auch kleine Arsendosen den Kohlehydratstoffwechsel verändern, indem sie als Grunderscheinung eine,

wenn auch nur leichte Hyperglykämie verursachen. Ich konnte den Wirkungsmechanismus des Arsens in der Therapie nicht durch akute oder chronische Vergiftung der Tiere untersuchen (Oelkers verabreichte sogar Dosen von 10 mg/kg intravenös, während die von Sollmann für Kaninchen bestimmte minimale tödliche Dosis 8,33 mg/kg subcutan beträgt). Es waren auch nicht tiefgreifende Störungen des Kohlehydratstoffwechsels nötig (nach den Untersuchungen Oelkers wird der Blutzuckergehalt sogar versechsfacht, s. Tabelle 2, Versuch 3), um behaupten zu können, daß das Metalloid auch in den von mir verwandten Dosen auf den Kohlehydratstoffwechsel wirkt. Man darf nicht vergessen, daß die eutrophische Wirkung des Arsens langsam eintritt und daß die Arsenkuren sich lange hinziehen; diese Grunderkenntnisse sind für mich mehr als ausreichend, um die Vermutung von Beziehungen zwischen selbst nur leichten Veränderungen des Blutzuckerspiegels und der eutrophischen Wirkung als gerechtfertigt erscheinen zu lassen. Damit will ich durchaus nicht sagen, daß die Untersuchungen Oelkers nicht auch ihren Zweck hätten; es liegt mir nur daran, klargestellt zu haben, daß meine Versuche in Anbetracht der dabei aufgewandten Genauigkeit und ihres Zweckes gegenüber denen Oelkers ihren vollen Wert behalten.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf.
(Direktor: Prof. Dr. med. O. Girndt.)

Beiträge zur Pharmakologie des extrapyramidalen Systems.

I. Mitteilung: Die Wirkung des Harmins bei Katzen mit intaktem Nervensystem.

Von

A. G. Beer.

(Eingegangen am 23. Juli 1939.)

Seit der Einführung des Harmins in die Therapie der postencephalitischen Tonus- und Bewegungsstörungen durch Beringer (1) ist die Klärung der zentralen Angriffspunkte und der Wirkungsweise dieses Alkaloids von klinischer und tierexperimenteller Seite wiederholt versucht worden. Dabei galt das Interesse nicht zuletzt der Frage, ob das Harmin im wesentlichen am pyramidal-motorischen oder am extrapyramidal-motorischen System angreift.

Aus den klinischen Beobachtungen geht übereinstimmend hervor, daß Harmin die als Parkinsonismus bezeichneten Folgezustände der Encephalitis lethargica günstig beeinflußt: es kommt nicht nur zu einer erheblichen Besserung der Willkür-Motorik einschließlich der Sprache, sondern auch zu einer weitgehenden Minderung der Muskelsteifigkeit; der ebenfalls zum „Parkinson-Syndrom" gehörende Tremor ist dagegen durch Harmin nicht beeinflußbar [Beringer (1, 2), Beringer und Wilmanns (3), Halpern (4)]. Außerdem erfährt der psychische Zustand der Kranken in vielen Fällen eine wesentliche Besserung. Größere Gaben können Benommenheit und traumhaft halluzinatorische Zustände auslösen*. In Selbstversuchen mit den therapeutisch üblichen Gaben (0,01 – 0,02 g Harmin) stellte Halpern (5), außer einer anfänglichen Rauschwirkung, Schwindelgefühl und vermehrten Bewegungs- und Tatendrang fest; später beobachtete er ein Leichterwerden der Bewegungsabläufe, jedoch wurde gleichzeitig das Gehen unsicher. Nach toxischen Gaben (0,2 g) sahen Beringer und Wilmanns (3) bei einer gesunden Versuchsperson einen von bedrohlichem Kollaps und hochgradiger Bradykardie begleiteten langanhaltenden Tremor der gesamten Körpermuskulatur auftreten; Anzeichen eines Rauschzustandes wurden bei dieser Vergiftung vermißt.

Im Tierversuch wurde Harmin bereits 1895 durch Tappeiner und Neuner (6) an Fröschen, Meerschweinchen, sowie Kaninchen geprüft und nach seiner auffälligsten Wirkung als Krampfgift bezeichnet. Auch die späteren Untersucher [Flury (7), Gunn (8), Kreitmair (9)] stellten eine ausschließlich zentrale Wirkung des Alkaloids auf das Nervensystem fest. Sie äußert sich bei Hunden und Katzen u. a. in anhaltendem Zittern des ganzen Körpers, einem eigenartig steifbeinigen Gang, Zwangsbewegungen und, nach hohen Dosen, in „epileptiformen" Krämpfen verbunden mit Lähmungserscheinungen. Daneben kommt es zu eindrucksvollen

* Bezüglich der übrigen klinischen Harmin-Literatur sei auf die Referate in Mercks Jber. 1928, 1930, 1931 und 1933 hingewiesen.

seelischen Veränderungen der höher entwickelten Versuchstiere: Katzen werden scheu und ängstlich, Hunde ausgesprochen bösartig und aggressiv.

Harmin ist eines der in ihrer chemischen Struktur genau erforschten Alkaloide der auf den Steppen der Mittelmeerländer bis nach Tibet hin wildwachsenden Peganum harmala*. Es wurde bereits 1847 von Fritsche (10) isoliert. Wie Wolfes und Rumpf 1928 in den Merckschen Laboratorien nachgewiesen haben (11), ist es mit dem Banisterin bzw. Yajein genannten Alkaloid der südamerikanischen Liane Banisteria Caapi Spruce (Yaje-Droge) chemisch und, wie Kreitmair (9) zeigen konnte, auch pharmakologisch identisch. Dementsprechend ergab auch die vergleichend klinisch-therapeutische Durchprüfung von Harmin und Banisterin Wirkungsgleichheit [Beringer und Wilmanns (3)].

Beringer (12) scheint, wenigstens für einen Teil der therapeutischen Harminwirkung (Besserung des Muskeltonus und der Bewegungsproduktion) subkortikale Angriffspunkte anzunehmen. Halpern (5) dagegen leugnet, auf Grund elektromyographischer Untersuchungen an Parkinson-Kranken und seiner Vorstellungen über den pathophysiologischen Mechanismus des Parkinson-Syndroms jeden unmittelbaren Einfluß des Harmins auf das extrapyramidale System. Nach ihm ist die Wirkung dieses Alkaloids auf die Motorik, im Gegensatz zu der des Skopolamins, eine ausschließlich kortikale: durch Erregung der Rindenzentren stellt es die beim Parkinsonisten aufgehobene Herrschaft der pyramidalen über die extrapyramidale Motorik wieder her. Dementsprechend sieht Halpern in dem nach vergiftenden Gaben auftretenden Harmin-Tremor (s. o.) nicht eine vom Extrapyramidium her ausgelöste Störung, sondern eine toxische Ausschaltung der „kortikalen Dominanz" über die subkortikale Motorik**.

Die pharmakologische Forschung beschritt bei der Analyse der zentralen Angriffsorte des Harmins teils den Weg der Ausschaltung, teils den der isolierten pharmakologischen Reizung höherer Hirnteile. Kadoyama (14) stellte an Kaninchen fest, daß die erregende Wirkung des Harmins bzw. des ihm chemisch und toxikologisch nahestehenden Harmans*** mit der beiderseitigen Großhirnabtragung völlig verloren geht. Sato (15) konnte diese Ergebnisse allerdings nur zum Teil bestätigen; insbesondere fand er, daß für die Auslösung der zum Vergiftungsbild intakter Kaninchen gehörenden „Schwimm-" und Laufbewegungen, sowie der Extremitätensteifheit das Großhirn ohne Bedeutung ist. Er

---

* Näheres s. auch E. Hesse, Die Rausch- und Genußgifte. Stuttgart, Verlag Enke 1938. S. 66ff.

** Nach den Untersuchungen von Marinescu, Kreindler und Scheim (13) liegt die therapeutische Bedeutung des Harmins keineswegs ausschließlich in der Beeinflussung des animalischen Anteils des Nervensystems. Diese Autoren stellten nämlich fest, daß Harmin die bei Parkinson-Kranken bestehende Übererregbarkeit des Parasympathicus dämpft und gleichzeitig die zu geringe Erregbarkeit des Sympathicus erhöht. Zum Wirkungsbild dieses Alkaloids bei der Metencephalitis gehört also die Wiederherstellung des gestörten vegetativen Gleichgewichtes.

*** Harman unterscheidet sich vom Harmin chemisch lediglich durch das Fehlen der Methoxy-Gruppe.

nimmt an, daß diese Symptome durch Erregung der im vorderen Mittelhirn gelegenen motorischen Zentren zustandekommen, da sie erst nach Durchtrennung des Hirnstamms dorsal vom Vorderrande der Rautengrube und ventral durch die Mitte der Brücke vermißt werden. Nach den Versuchen von Hara und Mori (16) an Kaninchen, Katzen und Hunden löst Harmin nach operativer Ausschaltung von Großhirn und Hirnstamm einschließlich der Vierhügel weder Krämpfe noch Zittern aus. Aufbringen einer Harminlösung auf die bloßgelegte Hemisphäre ruft an der gekreuzten Körperseite Spasmen und Krämpfe hervor. In gleicher Weise gelang es Kadoyama (14) mit 1%igen Lösungen von Harman heftige einseitige Zuckungen der Körpermuskulatur auszulösen.

Es besteht somit ziemlich allgemein die Ansicht, daß die Wirkung des Harmins auf die Bewegungsproduktion des Warmblüters und seine therapeutische Beeinflussung der extrapyramidalgestörten Motorik auf Erregung der Großhirnrinde beruhen, obwohl diese Auffassung u. E. weder aus den vorliegenden tierexperimentellen Befunden noch aus seiner klinischen Wirksamkeit mit Sicherheit abgeleitet werden kann*. Es interessierte daher, unter besonderen und physiologisch einwandfreien Versuchsbedingungen das Wirkungsbild des Harmins nach Ausschaltung der Hirnrinde auf die subkortikalen motorischen Zentren, insbesondere das extrapyramidale System eingehend zu untersuchen. Als Versuchstier diente die für Harminstudien bisher kaum herangezogene Katze, weil sie über ein hochentwickeltes Nervensystem und eine vielseitige Motorik verfügt; vor allem aber, weil Katzen die doppelseitige Großhirnexstirpation bei entsprechender Pflege viele Monate, und somit über die Zeit des Operationsschocks hinaus überleben**. Die unter Harmin hervorgerufene Bewegungs- und Haltungsänderungen der Versuchstiere wurden, gemeinsam mit O. Girndt, kinematographisch und, sofern erforderlich, mit Zeitlupenaufnahme festgehalten. Dadurch war eine nachträgliche, genaue Untersuchung auch der rasch ablaufenden und komplizierten Bewegungen möglich***.

Zunächst soll in der vorliegenden Mitteilung auf Grund von 60 Versuchen an 30 normalen Katzen eine Analyse der Harminwirkung auf das intakte Nervensystem gegeben werden. Die Applikation des Alkaloids erfolgte stets subcutan als 0,25–1%ige Lösung. Die Dosierung wurde im Bereich der eben wirksamen und der sicher tödlichen Gabe (2 bzw. 55 mg/kg) so variiert, daß keine der möglichen Wirkungsänderungen übergangen wurde. Zweitversuche am gleichen Tier wurden lediglich mit kleinen Dosen

* Siehe auch I. A. Gunn (8), dort S. 188.

** Bezüglich der Bedeutung der Überlebenszeit großhirnloser Säugetiere für den Ausfall pharmakologischer Wirkungen am Zentralnervensystem s. Girndt, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 142 (1936).

*** Die wichtigsten Aufnahmen werden demnächst von der Reichsstelle für den Unterrichtsfilm des Reichserziehungsministerium als Archiv-Film veröffentlicht werden.

vorgenommen und auch nur dann, wenn nach 14 Tagen keinerlei Nachwirkungen oder Veränderungen an den Versuchstieren nachzuweisen waren. Wirkungsabnahme bzw. Zeichen einer Gewöhnung wurden dabei nicht beobachtet, im Gegenteil fiel eine ziemliche Konstanz der Wirkung auf.

Das Vergiftungsbild und seine Veränderungen bei steigenden Dosen wird zweckmäßig an Hand einiger Versuchsprotokolle bzw. Protokollauszüge gezeigt.

Protokoll 1.

26. 10. 1936.

Kräftiger, zutraulicher, schwarzer Kater, 2,4 kg.

14 Uhr 30 Min.: Vorversuch: Das Tier geht langsam in normalem Katzengang umher, zutraulich, nicht schreckhaft.

15 Uhr: 0,005 g pro kg Harmin. hydrochloric. subcutan. Injektion schmerz- und reaktionslos; Tier verhält sich in den folgenden 5 Min. wie im Vorversuch.

Nach 7 Min.: Steht plötzlich still, blickt ängstlich und erregt mit gesenktem Kopf nach allen Seiten umher, geht in schneller Gangart mit normalen Bewegungen unruhig und erregt weiter, läßt sich jedoch ohne Flucht- oder Abwehrreaktion anfassen.

Nach 10 Min.: Ausgesprochene Erregung, Ängstlichkeit und Schreckhaftigkeit, bleibt kurze Zeit mit leicht gekrümmtem Rücken und schlagendem Schwanz stehen, geht dann in Beugehaltung mit gesenktem Kopf in elastischem Schleichgang unruhig umher, flieht bei Annäherung und lauten Geräuschen; plötzlich einsetzende starke Salivation; den zunächst dünnflüssigen, nach einiger Zeit ausgesprochen zähen Speichel, sucht das Tier durch Kopfschütteln und Leckbewegungen abzuschütteln. Defäkation in normaler Haltung. Die Pupillen sind erweitert, die Unruhe nimmt zu.

Nach 13 Min.: Das Tier steht geduckt mit starker Speichelfahne und beginnt anhaltend laut und kläglich zu schreien, bei Annäherung Flucht in elastischem Schleichgang. Die Beugehaltung des Tieres nimmt zu, der Schleichgang geht in ein Kriechen über, bei dem die Extremitäten eigentümlich langsam und zögernd auf der Unterlage vorgeschoben werden. Das Tier klebt förmlich am Boden, beim Versuch es aufzurichten, preßt es sich noch stärker an die Unterlage und versucht sich festzuhalten. Fast unvermittelt geht nach einiger Zeit die Beugehaltung der Hinterbeine in eine starke Extensionshaltung über. Das Tier geht mit hohem Steiß, gekrümmtem Rücken und gesenktem Kopf bei zunächst noch bestehender Beugehaltung der Vorderbeine unruhig und erregt weiter. Die Extremitäten, vornehmlich die Hinterbeine, werden in ausgesprochener Streckstellung steif und unsicher aufgesetzt, während die Vorderbeine zunächst noch die Beugehaltung beibehalten. Der Ablauf der Bewegung ist verlangsamt und erscheint abgehackt. Nach mehreren steifen, hopsenden Sprüngen erreicht das Tier eine Mauerecke, in die es sich in Bauchsitzlage schmiegt; der Kopf wird dabei fest in die Ecke gepreßt. Plötzlich einsetzender, feinschlägiger Ruhetremor des ganzen Körpers, der ungefähr 5 Min. anhält und dann wieder verschwindet. Bei Annäherung klägliches Miauen; Tier versucht sich in der Ecke festzuhalten. Sehnenreflexe und Muskeltonus sind nicht verändert, abnorme Körperstellungen werden normal korrigiert, die etwas erweiterten Pupillen reagieren normal. Geräusche und Bewegungen in der Umgebung werden ängstlich beachtet; der Speichelfluß hält an. Aus der Ecke genommen und losgelassen flieht es sofort wieder in steifen, hopsenden Sprüngen etwas schwankend dorthin zurück und nimmt seine alte Lage wieder ein. Die Vorderextremitäten zeigen jetzt ebenfalls Streckstellung.

Nach 20 Min.: Richtet sich auf und beginnt mit langsamen, steifen abgesetzten Bewegungen der Hinterbeine und leicht gekrümmtem Rücken aus der Ecke zu gehen, miaut dabei kläglich und blickt ängstlich mit gesenktem Kopf umher. Achtet auf Geräusche und ist ausgesprochen schreckhaft; die Salivation hat nachgelassen, kein Tremor während der Bewegung. Nach einigen Metern setzt es sich wieder langsam, geht dann in Bauchlage, preßt sich dabei fest an die Wand. Bei Annäherung und Berührung keine Reaktion, insbesondere keine Zeichen von Abwehr oder Bösartigkeit.

Nach 28 Min.: Sitzt unverändert, vorübergehende Zunahme der Speichelsekretion. Nach einiger Zeit richtet sich das Tier langsam auf und geht einige Meter an der Wand entlang, die Bewegungen sind noch langsam. Steifigkeit und Unsicherheit des Ganges haben bereits nachgelassen. Setzt sich dann wieder und achtet kaum auf Geräusche und Bewegungen. Die Pupillen sind normal, keine Schreckhaftigkeit mehr, keine Fluchtreaktion bei Annäherung.

Nach 45 Min.: Sitzt unverändert, ist ausgesprochen bewegungsarm und schläfrig, achtet kaum auf Geräusche, kein Speichelfluß mehr.

Nach 80 Min.: Unverändert; beginnt sich zu putzen, schnurrt bei Berührung. Aufgerichtet bleibt es zunächst stehen, geht dann in normalem Gang einige Schritte und setzt sich wieder.

Nach 120 Min.: Bis jetzt unverändert, ruhig, beginnt plötzlich umherzugehen wie im Vorversuch.

Ergebnis.

0,005 g Harmin. hydrochlor. rufen zunächst einen Zustand starker Erregung und ängstlicher Unruhe hervor, der sich bis zur wilden Fluchtreaktion steigert. Es kommt zu anhaltendem Speichelfluß und für kurze Zeit zu einem feinschlägigen Ruhetremor der ganzen Körpermuskulatur. Die Unruhe beginnt in starker Beugehaltung, Schleich- und Kriechgang, dabei zeigt das Tier das ausgesprochene Bestreben, möglichst bodennahe zu sein, ja förmlich am Boden zu kleben. Die Bewegungen der Extremitäten verlieren nach einiger Zeit ihren normalen Charakter und werden langsam und fast unkoordiniert ausgeführt. Es ändert sich nun insofern das Bild, als die Beugehaltung fast unvermittelt in eine Extensionshaltung übergeht. Das Tier ist nun hochaufgerichtet und geht in dieser starken Streckhaltung mit steifen, ataktischen Bewegungen umher. Die Lage und Bewegunsreaktionen sind erhalten, die tonischen Halsreflexe beim Drehen des Kopfes nicht sicher gesteigert. Bei der üblichen Prüfung war eine Steigerung des Muskeltonus nicht feststellbar. Mit rasch abklingender Wirkung nimmt das Tier auch seine normale Haltung wieder ein und wird zunehmend bewegungsarm. Die psychischen Veränderungen verschwinden ebenfalls. Die Reaktionen auf äußere Reize sind während dieser Zeit stark vermindert. Nach etwa 2 Stunden zeigt das Tier sein ursprüngliches Verhalten wieder.

Protokoll 2.

25. 5. 1936.

Scheue, rotweiße Katze, 2,2 kg.

15 Uhr: Vorversuch: Scheues, ängstliches Tier, das bei Annäherung und Lockrufen in großen Sprüngen flieht und sich versteckt. Gang und Lauf normal.

15 Uhr 30 Min.: 0,010 g pro kg Harmin. hydrochlor. subcutan. Injektion reaktions- und schmerzlos. Sofort nach der Injektion flieht das Tier in elastischem Lauf in eine entfernte Ecke, wo es sich zunächst noch ängstlich umherblickend niederläßt.

Nach 5 Min.: Sitzt ruhig, beginnt plötzlich erregt umherzublicken, richtet sich auf, bleibt in Beugehaltung mit gesenktem Kopf ängstlich nach allen Seiten blickend stehen und läuft dann geduckt, laut schreiend, umher. Nach kurzer Zeit wird der Gang unsicher und langsam. Die Beine in starker Streckhaltung, den Kopf gesenkt, den Rücken stark gekrümmt, versucht das Tier mit langsamen, steifen Bewegungen in eine Ecke zu flüchten. Gleichzeitig setzt ein starker feinschlägiger Tremor des ganzen Körpers ein, der am Kopf und Vorderkörper stärker zu sein scheint. Bei Annäherung versucht das Tier mit einigen steifen, eigentümlich hopsenden Sprüngen in eine Ecke zu flüchten, schwankt dabei stark. Die nun zunehmende Lateralpulsion bringt das schreiende Tier aus seiner zielstrebigen Fluchtrichtung, die es jedoch trotz dauernder Abweichungen immer wieder einhält. Starkes Schwanzkreisen während des Laufes. Schließlich fällt es mit dem Hinterkörper wiederholt in Seitenlage, bleibt zuletzt in Bauchlage mit seitlich abgestreckten Extremitäten liegen und beginnt mit den Vorderbeinen auf dem Boden zu „rudern", starke Salivation. Nach einiger Zeit versucht es sich unter kläglichem Schreien unter einem Brett zu verkriechen.

Nach 10 Min.: Liegt mit weiten Pupillen und schlagendem Schwanz in seinem Schlupfwinkel. Bei Annäherung klägliches Schreien, beim Versuch es zu berühren, wütendes Fauchen und steifes ungelenkes Schlagen und Beißen nach der Hand. Beginnt plötzlich wieder in hopsenden Sprüngen, nach der Seite schwankend, in eine andere Ecke zu fliehen; versucht dort sich in ein enges Rohr zu verkriechen, steckt Kopf und Vorderpfoten hinein und bleibt mit stark abgestreckten Hinterbeinen liegen. Tremor unverändert stark. Ausgesprochene Streckstellung der Extremitäten in Bauch- und Rückenlage, die Sehnenreflexe sind nicht gesteigert. Der Tremor ist nicht zu unterdrücken. Die Atmung ist beschleunigt, die Pupillen weit. Auf Schwanzkneifen kaum Reaktion. Rückenlage und abnorme Pfotenstellung werden sofort korrigiert. Losgelassen, versucht es unter kläglichem Miauen wie vorher kriechend in die nächste Ecke zu fliehen; dort angekommen, verkriecht es sich unter eine Kiste.

Nach 15 Min.: Das Tier liegt in Bauchlage mit abgestreckten Beinen, starkem Ruhetremor und mäßiger Salivation, achtet ängstlich auf Geräusche und Bewegungen der Umgebung. Vereinzelt klägliches Schreien mit wütendem Fauchen ohne ersichtlichen äußeren Grund. Die Atmung ist weiter beschleunigt, laut hachelnd. Bei Annäherung lautes Fauchen und Abwehrversuche, verkriecht sich schließlich weiter in die Ecke, versucht dann an der Wand hinaufzuklettern, bleibt mit dem Vorderkörper an der Wand hängen und verbleibt einige Minuten in dieser Stellung.

Nach 25 Min.: Liegt bewegungsarm in Bauchlage mit seitwärts abgestreckten Beinen, den Kopf an den Boden gepreßt da. Tremor und Salivation unverändert. Beim Kneifen in das abgestreckte Bein wird es normal angezogen, sofort laute Schmerzäußerungen; Schreckhaftigkeit bei lärmenden Geräuschen. Lautes Fauchen und Abwehrversuche bei Berührung, läßt sich jedoch weiterhin unter kläglichem Miauen streicheln.

Nach 30 Min.: Unverändert. Richtet sich auf, steht unsicher steifbeinig mit stark gekrümmtem Rücken und gesenktem Kopf, erbricht mehrmals. Versucht nach vorwärts zu gehen, retropulsiert einige Meter steifbeinig, geht dann langsam wieder in die Bauchlage zurück.

Nach 35 Min.: Liegt unverändert, bewegungsarm. Kein Speichelfluß mehr. Der Tremor ist in Ruhe gering, in wechselnden Intervallen heftige Tremoranfälle von

kurzer Dauer. Bei Bewegungen starker Tremor der Extremitäten und des Kopfes. Die Pupillen sind nicht mehr erweitert, reagieren normal.

Nach 45 Min.: Liegt unverändert, keine Schreckhaftigkeit, bei Annäherung und Berührung keinerlei Reaktion. Ruhetremor noch angedeutet. Das Tier richtet sich auf, steht mit steifen Hinterbeinen, gesenktem Kopf und gekrümmtem Rücken längere Zeit zögernd da, beginnt dann mit langsamen steifen Schritten schwankend zu gehen, dabei starker Tremor des Kopfes und der Vorderbeine. Bleibt nach wenigen Schritten stehen und verharrt längere Zeit bewegungslos, geht dann langsam mit angezogenen und gebeugten Extremitäten in Bauch-Sitzlage.

Nach 60 Min.: Sitzt unverändert, achtet kaum auf Geräusche und Bewegungen in der Umgebung, ausgesprochen bewegungsarm. Kein Tremor mehr, läßt sich ohne Reaktion streicheln, schmiegt sich an, schnurrt, zeigt keinerlei Scheu.

Nach 150 Min.: Sitzt immer noch an der gleichen Stelle, bewegungsarm und schläfrig, richtet sich bei Annäherung auf, blickt scheu und ängstlich umher und flieht wie im Vorversuch mit normalen Bewegungen.

Ergebnis.

0,010 g Harmin. hydrochloric. pro kg Tier rufen nach einer Periode vermehrten Bewegungsdranges und motorischer Unruhe ausgesprochene Bewegungsarmut hervor. Im einzelnen fällt neben der Salivation zunächst der die ganze Muskulatur befallende organische Tremor auf, dessen Intensität zeitweilig anfallsweise zu- und abnimmt und der nach Art eines Intensionstremors bei Bewegungen verstärkt ist. Die ursprüngliche Flexionshaltung und das bodennahe Kriechen gehen nach kurzer Zeit in eine Extensionshaltung mit hohem, steifem Gang über. Die Bewegungen der Extremitäten sind verlangsamt, erscheinen abgehackt und unkoordiniert; sie werden zögernd und unsicher tastend begonnen. In Rückenlage starke Streckstellung der Extremitäten. Beim Anheben der Rückenhaut zeigt das Tier keine Reaktion zur Beugehaltung. Die tonischen Halsreflexe auf die Glieder beim Drehen des Kopfes sind lebhaft. Gegen Ende des Bewegungsdranges kommt es zu starken Lateralpulsionen, jedoch sind zu dieser Zeit die vorübergehend gesteigerten Augendreh-, Kopfdreh- und Nachreaktionen wieder in normaler Stärke auslösbar gewesen. Weiterhin zeigt das Tier während des durch die Lateralpulsion noch nicht beeinflußten Ganges eine auffällige Muskelschwäche des Hinterkörpers, die sich beim Stehen in unsicheren Schwankungen desselben äußert. Die Halsstellreflexe auf den Hinterkörper sind dabei abgeschwächt. Die Sehnen- und Periostreflexe werden nicht beeinflußt, die Reaktionen auf sensible Reize sind vorübergehend abgeschwächt. Die psychischen Veränderungen der Versuchstiere sind augenfällig. Die ängstliche Unruhe, das klägliche Schreien, die Schreckhaftigkeit, die anhaltende Eckenflucht und der Verkriechungszwang sind anscheinend der Ausdruck einer das Tier beherrschenden Angst. Die Abwehrreaktionen und das wütende Fauchen, sowohl bei erkennbaren äußeren Ursachen als auch beim Fehlen solcher, sind ebenfalls als Ausdruck eines Angstgefühls anzusehen, zumal spontane, bösartige Angriffe auf irgendwelche Gegenstände oder Personen nicht zu beobachten

sind. Diese Veränderungen sind jedoch nur für die erste Phase des Vergiftungsbildes charakteristisch und schwinden mit zunehmender Bewegungsarmut. Das Tier verliert dann jegliches ängstliches Gebaren, achtet kaum auf seine Umgebung, wird zutraulich, schnurrt, zeigt also eine gewisse Euphorie. Nach Abklingen der Wirkung zeigt es sein ursprüngliches Verhalten wieder.

Protokoll 3.

1. 11. 1936.

Schwarzweiße Katze, 2,6 kg.

15 Uhr: Vorversuch: Normaler, elastischer Gang und Lauf. Das Tier ist etwas scheu und ängstlich, nicht bösartig, läßt sich berühren und schmiegt sich dabei an. Bleibt nach kurzem Umhergehen sitzen.

15 Uhr 40 Min.: 0,020 g pro kg Harmin. hydrochlor. subcutan. Injektion schmerz- und reaktionslos. Geht nach der Injektion einige Schritte und setzt sich dann wieder.

Nach 10 Min.: Nach üblichem Vergiftungsablauf mit Eckenflucht, Verkriechungszwang usw. beginnt das Tier nun mit steifen Extremitäten zu retropulsieren. Dieses „Rückwärtsgehen" geht nach mehreren Metern in ein Rutschen auf der Hinterhand mit unverändert abgestreckten Extremitäten über. Schließlich fällt das Tier in Seitenlage und bleibt liegen. Die Streckstellung der Extremitäten ist unverändert. Der Strecktonus ist gesteigert, die Sehnenreflexe etwas lebhaft. Periodenweise kommt es zu starkem Abstrecken der Extremitäten mit Zehenspreizen.

Nach 15 Min.: Lage unverändert, versucht sich aufzurichten. Vermehrte Unruhe, beginnt steifbeinig einige Meter zu retropulsieren, fällt dann in Seitenlage. Die Halsstellreflexe auf den Vorderkörper sind auslösbar, die auf den Hinterkörper stark abgeschwächt. Die Labyrinthstellreflexe auf den Kopf sind vorhanden. Beim Fallumdrehreflex fällt das Tier mit dem Hinterkörper in Seitenlage auf. Die Beine sind abgestreckt. Vereinzelt treten kurze Zuckungen auf, die durch den ganzen Körper gehen. Nach kurzer Zeit maximale Streckstellung der Beine mit Zehenspreizen. Die Sehnenreflexe sind jetzt etwas gesteigert, springen jedoch nicht auf das andere Bein über. Keinerlei Abwehr- oder Fluchtreaktion, keine Beachtung der Umgebung, kaum Reaktion auf Schmerzreize. Beim Kneifen in eine Pfote wird sie langsam angezogen. Vermehrt durch den ganzen Körper gehende Zuckungen; plötzlich versucht das Tier unter lautem Schreien aufzustehen, fällt sofort wieder in die Seitenlage, anschließend Anfall von klonischen Krämpfen (Dauer etwa 45 Sek.). Während der Krämpfe Abgang von Urin und Schaumbildung vor dem Munde. Die Pupillen sind maximal erweitert, reaktionslos. Die Zuckungen werden gleichzeitig und gleichmäßig von allen Extremitäten ausgeführt, Kopf und Unterkiefer führen ebenfalls gleichartige Zuckungen aus. Heftiges Schlagen des stark buschigen Schwanzes. Die Atmung ist beschleunigt, laut hachelnd. Bleibt in Seitenlage erschöpft liegen. Der während der Anfälle geschwundene Tremor setzt wieder ein.

Nach 18 Min.: Richtet unter kläglichem Miauen den Vorderkörper auf, der Hinterkörper liegt weiter in Seitenlage mit abgestreckten Extremitäten und stark gespreizten Zehen. Vereinzelt noch klonische Zuckungen. Der Tremor ist nun wieder voll ausgeprägt, die Salivation gering. Die Pupillen sind weit und reagieren träge.

Nach 20 Min.: Liegt mit starkem Tremor und abgestreckten Extremitäten bewegungslos in Seitenlage.

Nach 45 Min.: Liegt unverändert, völlig teilnahmslos da und ist durch nichts zum Aufstehen oder sonstigen Bewegungen zu veranlassen.

Nach 60 Min.: Liegt unverändert. Der Ruhetremor hat nachgelassen, achtet auf laute Geräusche mit Anheben des Kopfes, keine Reaktion bei Berührung, auf Schmerzreize klägliches Miauen ohne sonstige Abwehr. Aufgesetzt, bleibt es einige Sekunden mit gestreckten Beinen und gekrümmtem Rücken stehen, geht dann langsam, steif und schwankend einige Schritte, setzt sich langsam, fällt schließlich in Seitenlage und bleibt liegen. Während des Gehens starker Tremor der Extremitäten und des Kopfes.

Nach 80 Min.: Lage unverändert, noch geringer Ruhetremor, keinerlei Bewegung.

Nach 83 Min.: Richtet sich langsam mit starkem Bewegungstremor auf, geht steifbeinig schwankend einige Schritte und sucht sich ängstlich umherblickend zu verkriechen. Bleibt schließlich in Beugehaltung sitzen und beachtet ängstlich die Umgebung.

Nach 95—100 Min.: Unverändert. Ruhetremor gering, keine Reaktion bei Berührung, insbesondere keine Zeichen von Bösartigkeit oder Abwehr. Nach vorübergehender motorischer Unruhe ohne Lokomotion richtet sich das Tier unter starkem Tremor auf und beginnt nach längerem Retropulsieren in typischer Extensionshaltung umherzuwandern. Der Bewegungsdrang nimmt zu und das Tier flieht schließlich unter lautem Schreien und Miauen in eine Ecke um sich dort unter einer Kiste zu verkriechen.

Nach 106 Min.: Setzt sich in normale Bauchlage, kaum angedeuteter Tremor.

Nach 140 Min.: Sitzt bewegungslos, unverändert, kein Tremor, keine Beachtung der Umgebung.

Nach 220 Min.: Sitzt unverändert, bewegungsarm, ist nicht zum Gehen zu veranlassen.

Nach 240 Min.: Geht hochbeinig mit langsamen Bewegungen umher, ist wieder scheu und ängstlich.

Ergebnis.

Injektion von 0,02 g Harmin. hydrochlor. erzeugt nach etwa 15 Minuten einen Anfall von klonischen Krämpfen und im Anschluß daran klonische Einzelzuckungen. Die Sehnenreflexe sind hierbei vorübergehend gesteigert, die Stellfunktionen erloschen. Während der Krämpfe ist der Tremor geschwunden, erst einige Zeit nach Abklingen derselben setzt er wieder ein.

Die Vergiftungssymptome (Tremor, Salivation usw.) haben an Stärke zugenommen und im Gegensatz zu den kleineren Dosen beherrscht nun die Streckstellung der Extremitäten das Bild. Der Tonus der Beine ist erhöht, während des anfallsweisen Krallenspreizens stark gesteigert. Nach kurzem initialen Bewegungstrieb und den Krämpfen kommt es zu langanhaltender Bewegungsarmut, die vor dem Abklingen der Wirkung vorübergehend von einer Phase gesteigerten Bewegungsdrangs, in der auch die psychischen Veränderungen wie Schreien, Eckenflucht usw. wieder erscheinen, unterbrochen wird. Das Vergiftungsbild erscheint rückläufig. Während des initialen Bewegungsdranges kommt es wieder zu dem charakteristischen Gang, der nach einiger Zeit in ein Retropulsieren mit abgestreckten Extremitäten übergeht, bis das Tier schließlich mit dem Hinterkörper in Seitenlage liegen bleibt. Das Retropulsieren geht nach einigen Schritten in ein Rückwärtsrutschen auf der Hinterhand

über; es kommt dabei nicht zum Abrollen oder Überschlagen nach rückwärts. Der Halsstellreflex auf den Vorderkörper ist abgeschwächt, der auf den Hinterkörper erloschen. Die Labyrinthstellreflexe sind ebenfalls abgeschwächt; beim Fallumdrehreflex fällt das Tier mit dem Hinterkörper auf die Seite. Die Sehnenreflexe sind auslösbar. Die zweite Phase gesteigerten Bewegungsdrangs beginnt mit motorischer Unruhe in Seitenlage und endet nach Retropulsieren und Gang in Streckstellung in normaler Beugehaltung. Die Extremitätenbewegungen beim Laufen in Streckstellung sind verlangsamt, unsicher und abgehackt. Während der Lokomotionen Zunahme des Tremors an Kopf und Gliedern. Die Muskelschwäche des Hinterkörpers tritt gegenüber den kleineren Dosen sehr frühzeitig auf und ist wesentlich stärker. Die psychischen Veränderungen sind gleich geblieben. Während des Bewegungsdranges ausgesprochene Schreckhaftigkeit, Unruhe und ängstliches Gebaren; während der Bewegungsarmut ein leicht euphorischer Zustand und eine fast völlige Reaktionslosigkeit gegenüber der Umgebung. Nach Abklingen der Wirkung tritt das ursprüngliche Verhalten des Tieres wieder hervor.

Protokoll 4.

8. 12. 1936.

Grau-weiß getigerter Kater, 3,1 kg.

13 Uhr: Vorversuch: Ruhiges, nicht scheues Tier mit normalem Gang und Lauf.

13 Uhr 40 Min.: 0,055 g pro kg Harmin. hydrochlor. subcutan. Injektion schmerz- und reaktionslos.

Nach 14 Min.: Der bisherige Vergiftungsverlauf ist ohne abweichende Besonderheiten. Das Tier liegt mit seitlich abgestreckten Beinen in einer Ecke. In starker Streckstellung mit gespreizten Zehen versucht es sich nun unter starkem Tremor aufzurichten, fällt dabei in Seitenlage und bleibt mit stark abgestreckten Extremitäten liegen. In Rückenlage starke Streckstellung der Extremitäten mit Tonussteigerung. Die Sehnenreflexe sind etwas gesteigert. Die Labyrinthstellreflexe auf dem Kopf sind abgeschwächt, der Halsstellreflex auf den Hinterkörper nicht auslösbar. Auf starke Schmerzreize erfolgt keine nennenswerte Reaktion.

Nach 16 Min.: Seitenlage. Der Tremor hat nachgelassen, vereinzelt geht ein Zucken durch den ganzen Körper, dazwischen einzelne unregelmäßige Laufbewegungen. Die motorische Unruhe nimmt zu, die Atmung ist stark beschleunigt, die Pupillen sind maximal weit.

Nach 17 Min.: Plötzlich treten in kurzen Abständen wiederkehrende klonische Zuckungen der Extremitäten auf, die Sehnenreflexe sind gesteigert. Unter lautem Schreien setzt ein heftiger über 2 Min. anhaltender Anfall klonisch-tonischer Krämpfe ein. Der Tremor ist verschwunden. Die Extremitäten schlagen während des Anfalls meist gleichzeitig und gleichmäßig, ebenso Kopf und Unterkiefer. Die Atmung ist laut, hachelnd und unregelmäßig. Die Pupillen sind maximal erweitert und reaktionslos. Starke Schaumbildung vor dem Mund. Die Schwanzhaare sind gesträubt, das Tier ist stark zyanotisch.

Nach 20 Min.: Der Anfall ist abgeklungen, in kurzen, fast regelmäßigen Abständen folgen weiterhin klonische Zuckungen der Extremitäten und des Unterkiefers. Die Sehnenreflexe sind stark gesteigert.

Nach 22 Min.: Erneuter Krampfanfall von 70 Sek. Dauer mit anschließenden klonischen Einzelzuckungen, alternierenden Laufbewegungen und kurzen tonischen Streckstellungen der Extremitäten.

Nach 25 Min.: Nach vermehrten klonischen Einzelzuckungen wiederum Krampfanfall von $1^1/_2$ Min. Dauer, dabei Stuhl- und Urinabgang. Anschließend wieder klonische Zuckungen. Vorübergehend kommt es nun zu einer starken Streckstellung der Vorderbeine mit Krallenspreizen und angedeutetem Opisthotonus der Hals- und Brustwirbelsäule. Nach einigen Laufbewegungen setzen wieder klonische Einzelzuckungen ein.

Nach 30 Min.: Die Zuckungen haben aufgehört, nur hin und wieder geht ein Zucken durch den ganzen Körper. Die Atmung ist mühsam, die Pupillen weit und reaktionslos. Es besteht kein Tremor, das Tier liegt bewegungslos.

Nach 32 Min.: Klonische Einzelzuckungen treten wieder auf und nehmen an Häufigkeit zu, wiederum setzt ein kurzer Krampfanfall ein. Nach einigen klonischen Nachzuckungen liegt das Tier mit schlaffen Extremitäten bewegungslos da. Die Körperstell- und Labyrinthreflexe sind erloschen, die Sehnenreflexe nicht auslösbar. Auf starkes Pfotenkneifen erfolgt keinerlei Reaktion.

Nach 36 Min.: Unverändert, die Lähmung der Körpermuskulatur greift auf das Zwerchfell über, die Atmung wird ruckweise schnappend. Der Schwanz ist stark buschig, die Zyanose des Tieres hochgradig.

Nach 38 Min.: Die Atmung setzt nach einigen schnappenden Atemzügen aus, nach kurzer Zeit ist auch keine Herztätigkeit mehr festzustellen.

Nach 42 Min.: Beginn der Totenstarre.

Ergebnis.

Injektion von 0,055 g Harmin. hydrochlor. pro kg führt nach einem Status epilepticus und vollständiger Lähmung zum Tode des Tieres durch Atemlähmung. Die Krampfanfälle haben einen fast rein klonischen Charakter; zwischen den einzelnen Anfällen wechseln klonische Einzelzuckungen der Extremitäten, alternierende Laufbewegungen und vereinzelt extreme Anfälle von Streckhaltung mit Krallenspreizen. Die Lähmung befällt zuerst den Hinterkörper und ergreift dann anscheinend aufsteigend das ganze Tier. Die Lage- und Bewegungsreaktionen werden frühzeitig beeinträchtigt und sind bei voll ausgebildeter Lähmung nicht mehr auszulösen. Die motorischen Veränderungen während der Bewegungsperiode, sowie die zugehörigen psychischen Veränderungen sind gleich geblieben.

Aus den angeführten Protokollen geht hervor, daß die Vergiftungssymptome bei den verschiedenen Harmingaben weitgehend konstant sind. Die übrigen Versuche können daher in Form einer Tabelle gebracht werden, die ferner das durchschnittliche Verhalten der wichtigsten Körperstell- und Labyrinthreflexe im Bereich des Vergiftungsmaximums der verschiedenen Dosen zeigt (S. 388).

Gaben unter 2 mg pro kg Tier sind im allgemeinen unwirksam. Bei 2 mg zeigt sich meist kurze Zeit nach der Injektion eine geringe Unruhe, mitunter auch Leckbewegungen als Ausdruck beginnenden Speichelflusses. Nach 3 mg kommt es neben der Salivation für kurze Zeit zu angedeuteter Streckhaltung der Extremitäten und geringem feinschlägigem Tremor des Kopfes und des Vorderkörpers. Auch kommt es bereits vorübergehend zur

Dosis in mg pro kg:	2	7,5	12	18	25	30	40	50
Miauen und Schreien	0	+	+	+	+	+	+	+
Unruhe und ängstliches Gebaren	(+)	+	+	+	+	+	+	+
Eckenflucht u. Verkriechungszwang	0	+	+	+	+	+	+	+
Reaktion auf sensible Reize	+	+	(+)	(+)	(+)	(+)	0 (+)	(+) 0
Reaktion auf sensorische Reize	+	gesteigert		bis vermindert			b. erloschen	
Salivation	0	+	+	+	+	+	+	+
Atembeschleunigung	0	0	(+)	(+)	+	++	++	++
Extensionshaltung	0	+	+	+	+	+	+	+
Bewegungsdrang und motorische Unruhe	0	+	+	+	+	+	+	+
Tremor	0	+	++	++	++	++	++	++
Sehnenreflexe		normal			normal bis lebhaft			
Tonussteigerungen u. Zehenspreizen	0	0	(+)	+	+	+	++	++
Pulsionen	0	0	(+)	+	+	+	+	+
Klonische Krämpfe	0	0	0	0 (+)	+	+	++	++
Tonische Krämpfe	0	0	0	0	(+)	(+)	+	+
Laufbewegungen	0	0	0	0	(+)	+	+	+
Sprungbereitschaft	+	++	+	+	(+)	(+)	(+) 0	0
Fallumdrehreflexe	+	+	+	(+)	(+)	(+) 0	0	0
Labyrinthstellreflexe auf den Kopf	+	+	+	+	(+)	(+)	0 (+)	0
Halsstellreflex auf den Vorderkörper	+	+	+	+	(+)	(+) 0	0	0
Halsstellreflex auf den Hinterkörper	+	+	+ (+)	(+)	(+)	0 (+)	0	0
Tonische Reflexe auf die Extremitäten	+	+	++	++	+	(+)	0 (+)	0
Körperstellreflex auf den Körper	+	+	+	+	(+)	(+) 0	0	0
Augendrehreaktion	+	+	+	+	+	+	(+)	(+) 0
Augendrehnystagmus	+	++	+	+	+	+	(+)	0

Verlangsamung der Bewegungsäußerungen. Die psychischen und sensorischen Veränderungen, wie ängstliches Gebaren, Schreckhaftigkeit, Eckenflucht, Verkriechungsdrang und ängstliches Schreien sind bereits wesentlich stärker ausgeprägt. Die Lage- und Bewegungsreaktion sind nicht verändert. Die Wirkung klingt rasch ab. Gaben über 5 mg rufen mit Ausnahme der Krampfanfälle im allgemeinen bereits das typische Vergiftungsbild hervor. Die initiale Bewegungsphase mit den psychischen Veränderungen beginnt in Beugehaltung mit Schleichgang und Kriechen, bei ausgesprochenem Bestreben der Tiere am Boden zu kleben. Salivation und Tremor, die typischen Änderungen des Bewegungsablaufs mit den verlangsamten zögernden Bewegungen treten auf; weiterhin kommt es zur Extensionshaltung mit dem hohen, steifen ataktischen Gang und anschließend zu längerer Bewegungsarmut mit dem Wechsel der sensorischen Veränderungen, der sich in gewissen euphorischen Zügen und verminderter Reaktion auf äußere Reize der Tiere äußert. Mit steigenden Dosen bis zu 15 mg nehmen die Symptome lediglich an Stärke und Dauer zu. Kurz nach der Injektion ist in diesem Dosenbereich bei der Mehrzahl der Tiere eine vorübergehende vestibuläre und labyrinthäre Übererregbarkeit mäßigen Grades und eine Steigerung der Progressivreaktionen nachzuweisen. Über 15 mg führen bereits mitunter zu Krampfanfällen. Eine enge Parallelität zwischen steigenden Dosen und zunehmenden Vergiftungssymptomen war

nicht festzustellen, zumal die Empfindlichkeit der einzelnen Tiere mitunter nicht unerhebliche Schwankungen zeigte. Junge Tiere sind wesentlich empfindlicher. Sie reagieren teilweise schon auf Gaben, die bei erwachsenen Tieren kaum Veränderungen verursachen, mit schweren Vergiftungssymptomen. Während erwachsene Tiere selbst bei großen Dosen nach einigen Tagen keinerlei Nachwirkungen oder Schädigungen zeigten, erholte sich die Mehrzahl der $^1/_2$- bis $^3/_4$jährigen Katzen selbst bei Gaben unter 10 mg pro kg nicht wieder und ging im Laufe von 10—14 Tagen unter charakteristischen Veränderungen ein. Die Vergiftungserscheinungen klangen zunächst normal ab, nach 2—3 Tagen verloren die Bewegungen der Tiere ihre Elastizität und wurden merkwürdig langsam und steif. Veränderungen des Muskeltonus waren dabei nicht feststellbar. Die Tiere wurden weiter in der Folge zunehmend bewegungsarm und zeigten ein ausgesprochenes apathisches Wesen. Die Freßlust nahm ab und unter hochgradiger Abmagerung gingen sie ein.

Über 18 mg pro kg Tier führen regelmäßig zu Krampfanfällen, die wie die Filmanalysen der Schwebeversuche erkennen lassen, zunächst nur die Charakteristica rein klonischer Krämpfe besitzen. Mit steigenden Dosen treten nach den Krampfanfällen zunächst vorübergehend Lähmungserscheinungen der Hinterkörpermuskulatur auf. Die Halsstellreflexe auf den Hinterkörper sind dabei bereits stark abgeschwächt bis erloschen, die auf den Vorderkörper kaum nennenswert verändert. Im Dosenbereich 15—25 mg war wiederholt eine, sowohl die motorischen als auch die psychischen Veränderungen betreffende Rückläufigkeit des Vergiftungsbildes zu beobachten. Nach Bewegungsunruhe und folgender Bewegungsarmut kommt es wieder zu längerem Bewegungsdrang mit den gleichen psychischen Veränderungen. Die Bewegungsäußerungen beginnen fast regelmäßig rückläufig mit motorischer Unruhe ohne Lokomotion, verstärktem Tremor, Retropulsion, Gang in Hypertensionshaltung usw. Die psychischen Veränderungen kehren dabei meist bis zu ausgesprochener Eckenflucht wieder. Mit steigender Dosis nehmen die Krampfanfälle an Stärke und Häufigkeit zu, bis schließlich im Status epilepticus in kurzen Abständen, die von Einzelzuckungen unterbrochen sind, Anfall auf Anfall erfolgt. Die Dauer dieser Krampfzustände schwankt bei Gaben über 35 mg zwischen $^1/_2$—1 Stunde. Das ursprünglich rein klonische Krampfbild zeigt nun auch eine tonische Komponente, wie kurze tonische Streckhaltung einzelner Extremitäten usw.

Das konstanteste Vergiftungssymptom ist der schon bei eben wirksamen Gaben auftretende Tremor der gesamten Körpermuskulatur, der zunächst die Eigenschaften eines organischen Tremors besitzt und bei Bewegungen unverändert ist. Nach 6 mg Harmin pro kg wird die gleichmäßige Zitterreaktion von unregelmäßigen, starken Tremoranfällen mehr grobschlägigen Charakters, die unabhängig von spontanen Bewegungen in der Ruhe auftreten, unterbrochen. Weiterhin ist jetzt auch eine dem Intentionstremor ähnliche Verstärkung des Extremitäten- und Kopftremors bei

aktiven Bewegungen zu beobachten. Während der Krampf- und Lähmungszustände ist die Zitterreaktion verschwunden. Nach Abklingen der Krampfanfälle erscheint sie zunehmend wieder, um erst bei völliger Abnahme der Giftwirkung endgültig zu verschwinden.

Die initiale Phase gesteigerten Bewegungsdranges bzw. motorischer Unruhe ist bei den kleineren Dosen am stärksten und nimmt bei Steigerung derselben ab. Der Übergang zur Bewegungsarmut mit dem Wechsel der psychischen und sensorischen Symptome erfolgt ganz allmählich. Bei Beginn der mit der Erregung beginnenden Beugehaltung ist keine Veränderung des Muskeltonus festzustellen, der normale Extremitätentonus ist lediglich im Sinne einer Flexionshaltung verändert. Die zuerst die Hinter- und dann erst die Vorderextremitäten befallende Streckstellung zeigt zunächst keine Steigerung des Muskeltonus. Von 10 mg pro kg Harmin ab tritt eine Zunahme des Muskeltonus auf, deren Stärke anfallsweise wechselt und die in den Perioden starken Krallenspreizens ihr Maximum erreicht. Die tonischen Halsreflexe beim Drehen des Kopfes sind während der Streckhaltung lebhaft bis gesteigert; während der Anfälle stärkster Tonussteigerung sind sie nicht mehr auslösbar. Die Reaktion zur Beugehaltung beim leichten Anheben der Rückenhaut fehlt bei ausgesprochener Streckhaltung. Nach Verlust der aufrechten Körperhaltung bzw. bei Seiten- oder Bauchlage bleibt während der entsprechenden Vergiftungsstadien die Streckstellung und Steifigkeit der Extremitäten unverändert erhalten; dabei traten in Bauchlage mit seitlich abgestreckten Extremitäten wiederholt eigentümliche, „rudernde" Bewegungen der Vorderbeine auf.

Die zu Beginn der Harminwirkung am ausgesprochensten zu beobachtende Verlangsamung der Bewegungen besteht mitunter nach Abklingen aller übrigen Symptome und nach Rückkehr des ursprünglichen Verhaltens in einem hohen, eigentümlich stelzenden Gang. Der Ablauf der einzelnen Bewegungen war dabei verlangsamt. Die Beine wurden einzeln, unsicher aufgesetzt, der Gang ließ jegliche Elastizität vermissen.

Die Beeinflussung der Lage- und Bewegungsreaktionen ist wegen der unterschiedlichen Empfindlichkeit der Versuchstiere bei gleichen Dosen nicht ganz einheitlich. Im allgemeinen ist bei Gaben bis 15 mg pro kg Tier kurze Zeit nach der Injektion eine vorübergehende Steigerung der Progressivreaktionen, der Kopf- und Augendrehreaktionen nachzuweisen. Die im Dosenbereich bis 10 mg pro kg auftretenden Haltungsanomalien wie Streckhaltung, Bauchlage mit seitlich abgestreckten Extremitäten usw. gehen mit Ausnahme der genannten, vorübergehenden Steigerung ohne nachweisbare Störung der entsprechenden Reflexzentren für die Körperhaltung im Hirnstamm einher. Erst mit zunehmender Dosierung kommt es nach ihrem Abklingen zur Abschwächung bzw. Lähmung der Körperstell- und Labyrinthreflexe. Zuerst werden die Stellreflexe davon befallen, der empfindlichste von ihnen, der Halsstellreflex auf den Hinterkörper, ist

bei Gaben von 10 mg meist abgeschwächt und pflegt bei 15 mg pro kg Tier vorübergehend zu verschwinden. Während der Krampfanfälle und der darauf folgenden Lähmungsstadien kommt es zum völligen Schwinden der Lage- und Bewegungsreaktionen.

Nichtkrampferzeugende Dosen sind ohne nachweisbare Wirkung auf die Sehnenreflexe; vor und während des Krampfstadiums besteht eine geringe Steigerung.

Die sensorischen und psychischen Veränderungen der Tiere sind bei den verschiedenen Harmingaben ziemlich einheitlich und ausgeprägt. In allen Vergiftungsstadien mit vermehrtem Bewegungsdrang bzw. mit motorischer Unruhe zeigen die Tiere ein ängstliches Gebaren. Man hat den Eindruck, daß die Tiere sich vor irgend etwas fürchten und daher ohne erkennbare äußere Ursachen unter lautem, kläglichem Miauen und Schreien dauernd zu fliehen und sich anhaltend zu verkriechen suchen. Dabei werden alle Vorgänge und Geräusche in der Umgebung mit ängstlicher Aufmerksamkeit beachtet, und wie es scheint, auch richtig verwertet. Bei den mittleren und großen Dosen kommt es neben gesteigerter Schreckhaftigkeit auf akustische und optische Reize regelmäßig zu wütendem Fauchen der Tiere, das mitunter den Eindruck richtiger Wutanfälle hervorruft. Diese Äußerungen, die sowohl bei Annäherungs- oder Berührungsversuchen als auch auf akustische Reize auftraten, waren auch ohne ersichtliche äußere Ursache zu beobachten und gingen meist in ein klägliches Schreien oder Miauen der Tiere über. Spontane wütende Angriffe auf Menschen oder irgendwelche Gegenstände wurden jedoch nicht beobachtet, vielmehr scheinen all diese Veränderungen lediglich der Ausdruck ängstlicher Abwehr zu sein. Im Gegensatz hierzu sind die Tiere in den Stadien mit ausgesprochener Bewegungsarmut auffällig ruhig und zeigen mitunter eine gewisse Euphorie, die sich in verminderter Reaktion auf unangenehme Reize gegenüber der Umgebung und Zeichen von Wohlbehagen wie Schnurren, Anschmiegen und dergl. äußert. Die Aufnahmefähigkeit akustischer und optischer Reize scheint dabei in keiner Weise irgendwie gestört zu sein. Als Nebenwirkung wären noch das gelegentlich, unabhängig von der Dosierung auftretende Erbrechen, sowie die vorübergehende Abnahme der Herzfrequenz, die Atembeschleunigung, der Speichelfluß und der gelegentliche Abgang von Stuhl und Urin zu nennen. Die Dauer der Vergiftung schwankt bis zur Rückkehr des normalen Verhaltens im Bereich der nicht tödlichen Gaben zwischen 2 und 16 Stunden.

Die Harminwirkung zeigt gewisse Ähnlichkeiten mit der von Schaltenbrand (17) eingehend beschriebenen und analysierten Bulbokapninwirkung bei der Katze, die — abgesehen von der Bewegungsarmut und den Krampfanfällen — in dem Übergang der anfänglichen Flexionshaltung in die Extensionshaltung, sowie gewissen psychischen Veränderungen bestehen, während katalepsieähnliche Erscheinungen in der Regel fehlen.

Zusammenfassung.

Der Ablauf der Harminvergiftung der normalen Katze entspricht der Wirkung eines zentralerregenden Krampfmittels. Ein Teil der motorischen Erscheinungen, vor allem das Auftreten klonischer Krämpfe, sowie die konstanten sensorischen bzw. psychischen Veränderungen der Tiere, weisen zweifellos zunächst auf eine Beeinflussung des Großhirns hin. Andererseits zeigen der organische Tremor, die Verlangsamung des Bewegungsablaufs, die Extremitätensteifheit, die Pulsionen und die Veränderungen des Muskeltonus unter Harmin eine unverkennbare Ähnlichkeit mit einer Reihe von Symptomen amyostatischer Syndrome des Menschen nach Stammganglienschädigung bzw. bei pathologischen Erregbarkeitssteigerungen einzelner Teile des extrapyramidalen Systems, die den Schluß nahelegt, daß den angeführten motorischen Veränderungen eine unmittelbare erregende Wirkung des Harmins auf das extrapyramidale System zugrunde liegt. In einer weiteren Mitteilung wird daher unter besonderen Versuchsbedingungen die Wirkung des Harmins nach Ausschaltung der Großhirnrinde untersucht werden.

Literatur.

(1) Beringer, K.: Dtsch. med. Wschr. **1928**, S. 908. — (2) Beringer, K.: Der Nervenarzt 1928, Nr. 5, S. 265. — (3) Beringer, K., u. K. Wilmanns: Dtsch. med. Wschr. **1929**, S. 2081. — (4) Halpern, L.: Ebenda **1930**, S. 651. — (5) Halpern, L.: Ebenda **1930**, S. 1252. — (6) Tappeiner, H., u. A. Neuner: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **35**, 69 (1895). — (7) Flury, F.: Ebenda **64**, 105 (1911); Münch. med. Wschr. **1929**, Nr. 30, S. 1172. — (8) Gunn, J. A.: „The Harmine Group of alcaloids", Hdb. d. exper. Pharmakol., Erg.-Werk **5**, 184–196 (1937). — (9) Kreitmair: Verh. dtsch. pharmak. Ges. 1928; Mercks Jber. 1928, S. 9—19. — (10) Fritsche: Ann. Chem. u. Pharmaz. 1847, Bd. 64, S. 365. — (11) Wolfes u. Rumpf: Arch. Pharmaz. 1928, Bd. 266, S. 88. — (12) Beringer, K.: Mercks Jber. 1928, dort S. 19. — (13) Marinesco, G., A. Kreindler u. A. Scheim: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **154**, 301 (1930). — (14) Kadoyama, Ch.: Tohoku J. exper. Med. (Jap.) **17**, 1 (1931). — (15) Sato, M.: Ebenda **26**, 161—163 (1935). — (16) Hara u. Mori: Jap. J. med. Sci. Pharmacol. **7**, 78—79 (1933); zit. nach J. A. Gunn, Hdb. d. exper. Pharmakol., Erg.-Werk **5**, dort S. 187. — (17) Schaltenbrand, G.: Pflügers Arch. **209**, 623 (1925).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Medizinischen Akademie Düsseldorf.
(Direktor: Prof. Dr. med. O. Girndt.)

Beiträge zur Pharmakologie des extrapyramidalen Systems.

II. Mitteilung: Die Wirkung des Harmins bei Katzen ohne Neocortex.

Von

A. G. Beer.

(Eingegangen am 23. Juli 1939.)

In der vorhergehenden Mitteilung wurden die Erscheinungen beschrieben, die bei der Vergiftung intakter Katzen mit steigenden Harmingaben zu beobachten sind. Es wurden ferner die Gründe angeführt, die eine Untersuchung des Harmins in seiner Wirkung auf das seiner Hirnrinde beiderseits beraubte Tier veranlaßt haben.

Im Hinblick auf die aufgeworfene Frage, ob die in der Klinik und im Tierexperiment festzustellenden Eingriffe des Harmins in das motorische Geschehen im wesentlichen das pyramidale oder das extrapyramidale System treffen, wurden die Versuche an chronisch-großhirnlosen Katzen durchgeführt, d. h. an Tieren, bei denen die Entrindung mehrere Monate zurücklag und das Resthirn — im Gegensatz zu den bisher fast ausschließlich zur pharmakologischen Analyse herangezogenen, noch unter Schockwirkung stehenden akut-großhirnlosen Katzen — seine volle Leistungsfähigkeit wiedererlangt hatte.

Für unsere Harminversuche standen drei derartige Tiere zur Verfügung, von denen die Katze „M" zu Beginn der Untersuchung über 15, der Kater „H" über 8, der Kater „K" über 5 Monate beiderseits großhirnlos waren. Die Abtragung der Hemisphären wurde — unter Erhaltung des Striatums und möglichster Schonung des Riechhirns — von O. Girndt zweizeitig nach dem von ihm geübten und beschriebenen Verfahren ausgeführt*. Es handelt sich also bei unseren Katzen um Tiere ohne Neocortex oder — nach der Magnusschen Nomenklatur — um „Striatumkatzen". Über die Beschaffenheit der Resthirne und die Erreichung des Operationsziels (restlose Ausschaltung der Hemisphären, insbesondere der Pyramidenbahn) gibt der nachstehende Bericht von Dr. Bergner Aufschluß.

* Girndt, O., u. H. Lempke: Pflügers Arch. **239**, 544ff. (1937). Die Arbeit enthält ferner ausführliche Angaben über die zweckmäßigste Auswahl der Versuchstiere, ihre postoperative Pflege und die von uns erprobten Narkoseverfahren bei Katzen.

Zunächst soll kurz auf das physiologische Verhalten der drei Tiere eingegangen werden, da die Kenntnis ihrer normalen motorischen und affektiven Lebensäußerungen für die Beurteilung der Versuchsergebnisse unerläßlich ist und bei der kleinen Zahl der bisher beschriebenen chronisch-großhirnlosen Katzen [Dusser de Barenne (1), Girndt und Lempke (2), Rademaker (3), Schaltenbrand und Cobb (4)] ein weiterer Beitrag zu ihrer Physiologie berechtigt erscheint.

A. Physiologischer Teil.

Die Prinzipalmotorik zeigte bei keiner der drei Katzen Störungen; dabei schien der Ablauf der Geh- und Laufbewegungen gegenüber den gleichen Bewegungsäußerungen normaler Tiere etwas weniger elastisch und fließend. Während diese Unterschiede bei Katze „M" und „H" kaum festzustellen waren, zeigte Tier „K" diese wesentlich ausgesprochener. Erstere gingen in normaler Haltung und gleichmäßigem Tempo meist geradeaus oder an Wänden und sonstigen Hindernissen entlang und stießen dabei niemals unabgebremst an. Katze „K" dagegen lief dauernd in größeren Linkskreisen. Von Zeit zu Zeit traten bei ihr Anfälle von Zwangskreisen auf; sie lief dann in wesentlich schnellerem Tempo als gewöhnlich ein bis zwei Minuten lang in meist kleiner werdenden Linkskreisen und blieb plötzlich, mit starkem Kopf- und Augennystagmus, wie angewurzelt stehen. Das Verhältnis von Schlaf bzw. Bewegungsruhe und Wachsein und Bewegung war bei allen drei Katzen gegenüber normalen Tieren mit den gleichen Umweltbedingungen nicht nennenswert verschieden. Wie die großhirnlosen Katzen von Girndt und Lempke (2), zeigten sie im Hungerzustand und vor der Defäkation regelmäßig vermehrten Bewegungsdrang. Wie diese konnten sie auch eine Reihe komplizierter Bewegungen, z. B. Hasch- und Abwehrbewegungen, ausführen und sich in den verschiedensten Körperhaltungen nach Katzenart putzen. Mit Ausnahme der optischen Stellreflexe waren bei ihnen alle Lage- und Bewegungsreaktionen in normaler Stärke auslösbar. Die Sehnenreflexe und der Muskeltonus waren völlig normal. Bei keinem der Tiere wurden jemals spontaner Tremor oder Krämpfe beobachtet.

Sämtliche Tiere waren 8 Tage nach der Zweitoperation wieder in der Lage, feste und flüssige Nahrung selbst aufzunehmen; sie fraßen etwas gieriger und schneller als normale Katzen. Nach der Operation stieg das Körpergewicht zunächst gleichmäßig an und blieb dann konstant. Der Gesamtzustand war während der Untersuchungszeit einwandfrei, das Fell ständig glatt und glänzend. Verminderte Resistenz bzw. leichtere Anfälligkeit gegenüber den bei Katzen häufigen, oft infektiösen Durchfällen war nicht festzustellen.

Übereinstimmend mit den Beobachtungen der erwähnten Autoren zeigten sie ferner auf olfaktorische und akustische Reize mannigfache Reaktionen. Art und Stärke dieser Erscheinungen waren aber nicht nur von der augenblicklichen Stimmungslage der Tiere abhängig, die z. B. im Hungerzustand unruhig umherwanderten, am Boden schnupperten, und dabei kaum auf akustische

Reize achteten, sondern alle Lebensäußerungen, einschließlich der motorischen und der affektiven, schienen in der Art ihres Auftretens bei den einzelnen Tieren periodischen Schwankungen unterworfen zu sein, derart, daß z. B. beim einzelnen Tier Perioden gesteigerter Beachtung akustischer Reize oder vermehrten Bewegungsdranges mit Zeiten verminderter Beachtung akustischer Reize bzw. mit Perioden vorherrschender Bewegungsarmut wechselten, um dann in einem späteren Lebensabschnitt wiederzukehren, ohne daß die Tiere in der Beobachtungszeit irgendwelche wahrnehmbare körperliche Veränderungen gezeigt hätten.

Bei Tier „M" und „H" konnte ich bei entsprechender Versuchsanordnung wiederholt die von O. Girndt und H. Lempke (2) beschriebenen optomotorischen Reaktionen, wie Ausweichen vor Hindernissen und Anheben der Vorderpfoten beim Hinüberwechseln von hellen zu schwarzen Bodenflächen beobachten*.

Ferner zeigte Tier „M" dieses Pfotenheben verschiedene Male beim Übergang von sonnenbeleuchteten Flächen in starken Schlagschatten**.

Untereinander wiesen die Tiere wie normale Katzen eine verschiedene Reaktionsweise auf gleiche sensible und sensorische Reize auf. Besonders war dies an den affektiven Äußerungen der drei Tiere zu beobachten. Ihre Affektivität zeigte sich in Schnurrlauten, Anschmiegen, Fauchen, Wutanfällen mit lautem Schreien usw. Tier „M", das z. B. Berührung oder Festhalten zunächst mit Knurren, nach einiger Zeit mit heftigem, wütendem Fauchen, ja sogar mit Beißen und Abwehrversuchen beantwortete, unterließ in der Regel diese Äußerungen, wenn man es am Halse kraulte. Bei diesem Tier traten auch in regelmäßigen Zeitabständen wiederkehrende Brunsterscheinungen auf. Während dieser Zeit war sein affektives Verhalten völlig verändert, es ließ sich ohne Knurren oder Abwehrversuche berühren und umhertragen und nahm beim Kraulen gewisser Rückenpartien die für brünstige Katzen charakteristische Haltung ein.

B. Pharmakologischer Teil.

Die Wirkung steigender Harmindosen auf das großhirnlose Tier wird zweckmäßig wieder an einigen Protokollen gezeigt. Der Abstand zwischen zwei Versuchen am gleichen Tier war mindestens drei Wochen. Die Gesamtzahl der Versuche betrug 17.

Protokoll 1.

Tier „M", 3,3 kg. — Versuch vom 28. 3. 1937.

15 Uhr: Vorversuch: Das Tier sitzt ruhig und putzt sich eifrig über eine Viertelstunde lang, geht dann langsam mit normalem Gang an den Wänden entlang und achtet auf Lautreize mit Kopfwenden oder Anhalten. Die Lage- und Bewegungsreaktionen sind normal; während der Untersuchung knurrt und faucht das Tier wütend.

* Siehe Abb. 18a und 18b der oben zitierten Arbeit von O. Girndt u. H. Lempke (2); ferner Beer, A. G., u. R. Richard: Z. exper. Med. **105**, 123 (1939).

** Mit Tier „K" wurden diese Versuche nicht angestellt, da es sich wegen des ständigen Linkskreisens für derartige Untersuchungen nicht eignete.

16 Uhr: 0,003 g Harmin. hydrochloricum subcutan. Lautes Schreien und Fauchen und wütende Abwehr während der Injektion. Nach Beendigung derselben läuft es knurrend und fauchend einige Meter, stößt gegen die Wand, bleibt in Angriffsstellung kurz davor stehen, setzt sich dann beruhigt nieder.

Nach 3 Min.: Sitzt unverändert, achtet gesteigert auf alle Geräusche in der Umgebung und schrickt auf laute Schallreize zusammen.

Nach 4 Min.: Zunahme der Hyperakusis, richtet sich in Beugehaltung auf und beginnt unruhig mit erregtem Ausdruck den gesenkten Kopf nach allen Seiten umherzuwenden.

Nach 5 Min.: Geht mit langsamen Bewegungen in Beugehaltung und erregtem Ausdruck an der Wand entlang.

Nach 6 Min.: Die Beugehaltung geht in eine Streckhaltung über, die zunächst nur die Hinterbeine befällt; gleichzeitig setzt ein gleichmäßiger Tremor der ganzen Körpermuskulatur ein. Das Tier geht nun mit gestreckten Extremitäten, gekrümmtem Rücken und gesenktem Kopf, wiederholt knurrende Laute ausstoßend, umher. Die Beine werden steif, unsicher aufgesetzt, die Bewegungen erscheinen abgehackt und ausfahrend. Nach kurzen Leckbewegungen beginnt es stark zu speicheln. Der zuerst dünnflüssige Speichel wird zunehmend zäher und hängt schließlich in langen Fäden herunter.

Nach 10 Min.: Wandert in gleicher Haltung anhaltend umher und achtet kaum mehr auf Geräusche. Der Tremor ist nun periodenweise verstärkt, die Salivation hält unvermindert an.

Nach 15 Min.: In unverändertem Bewegungsdrang, ohne auf Schall- oder Berührungsreize zu achten, geht das Tier in der beschriebenen Gangart an den Wänden entlang. Die Lautäußerungen sind völlig verstummt. Die Pupillen sind normal weit, die Sehnenreflexe nicht verändert. Die Stellreflexe sind normal vorhanden. Die Augen-, Kopfdreh- und Nachreaktionen, sowie die Progressivreaktionen waren vorübergehend gesteigert. Die tonischen Reflexe auf die Extremitäten beim Drehen des Kopfes sind lebhaft. Die Reaktion auf sensible Reize ist unverändert.

Nach 22 Min.: Der vermehrte Bewegungstrieb läßt nach, die Bewegungen werden weiterhin auffallend langsam und zögernd ausgeführt; schließlich setzt sich das Tier in Sphinx-Stellung mit normal angezogenen Extremitäten. Tremor und Salivation haben nachgelassen.

Nach 24—40 Min.: Sitzt unverändert bewegungslos, achtet kaum auf lauteste Schallreize. Der Tremor ist geschwunden, der Speichelfluß nur noch gering. Keinerlei Lautäußerungen bei Berührung oder spontan. Richtet sich zuletzt wiederholt steifbeinig auf und setzt sich nach einigen zögernden Schritten wieder in Beugehaltung nieder; während der Bewegungen ist wieder geringes Zittern des Kopfes und der Extremitäten zu beobachten.

Nach 40—120 Min.: Sitzhaltung unverändert. Das Tier macht einen schläfrigen Eindruck, reagiert jetzt wieder mit Kopfwendung auf Geräusche; knurrt bei Berührung.

Nach 120—150 Min.: Unveränderte Bewegungsarmut und Lage. Achtet normal auf Geräusche. Zuletzt richtet sich das Tier auf und geht nach intensivem Gliederstrecken und Gähnen wie vor dem Versuch umher.

Ergebnis.

0,003 g Harmin. hydrochlor. rufen einen kurzen Erregungszustand der Tiere hervor, der sich anfänglich in unruhigem Gebaren, Knurrlauten und Schreckhaftigkeit auf Geräusche äußert und der mit Zunahme der motorischen Erregung schwindet und einer fast völligen Reaktionslosigkeit auf

Schall- und Berührungsreize weicht. Nach dem gesteigerten Bewegungsdrang kommt es zu einem Zustand ausgesprochener Bewegungsarmut, der keinerlei euphorische Züge aufweist.

Wie beim normalen Tier beginnt die Bewegungsphase in Beugehaltung, die nach kurzer Zeit, meist mit dem Einsetzen des Tremors, in die charakteristische Extensionshaltung übergeht. Die Bewegungen werden eigentümlich verlangsamt und in vollausgeprägter Streckhaltung geht das Tier mit den gleichen steifen, langsamen und abgehackten Bewegungen wie die normale, unter Harmin stehende Katze einher. Muskeltonus, Sehnenreflexe, Lage und Bewegungsreaktionen zeigen ebenfalls keine Abweichungen; doch ist der Bewegungstrieb wesentlich stärker, die Bewegungsänderungen und die Streckhaltung ausgeprägter als beim intakten Tier.

Protokoll 2.

Tier „H" 2,2 kg. — Versuch vom 1. 12. 1936.

13 Uhr: Vorversuch: Das Tier geht in normaler Gangart an der Wand entlang und achtet kaum auf laute Geräusche, bleibt mehrmals während des Umherwanderns spontan stehen, wendet den Kopf ohne erkennbare Ursache mehrere Minuten lang nach rückwärts, setzt dann seine Wanderung wieder fort. Knurrt ärgerlich bei Festhalten und Aufheben.

14 Uhr: 0,01 g Harmin. Hydrochlor. pro kg subcutan. Gegen Ende der Injektion wütendes Knurren, sonst keine Reaktion.

Nach 17 Min.: Bisheriger Verlauf wie in Protokoll 1. Unverminderter Bewegungstrieb. In starker Extensionshaltung der Extremitäten und mit stark gekrümmtem Rücken wandert das Tier mit steifen, ataktischen Bewegungen leicht schwankend umher. Die Gehbewegungen werden nun zusehends schneller, das Tier gerät in heftiges Propulsieren und stößt dabei mit Wucht an die Seitenwände. Keine Beachtung von Geräuschen, keine Lautäußerungen; der gleichmäßig starke Tremor wird jetzt unregelmäßig, d. h. von kurzen Tremoranfällen mehr grobschlägigen Charakters unterbrochen. Die Salivation ist unverändert stark.

Nach 20 Min.: Keine Propulsionen mehr, geht mit langsamen typischen Bewegungen und unveränderter Haltung in unverändertem Bewegungsdrang weiter. Die tonischen Reflexe auf die Extremitäten sind gesteigert, desgleichen die Bewegungsreaktionen. Die Sehnenreflexe sind normal auslösbar. Die Pupillen etwas erweitert, die Atmung mäßig beschleunigt. Die Reaktion auf sensible Reize etwas vermindert.

Nach 45 Min.: Bis jetzt unveränderter Bewegungsdrang. Die Bewegungen sind nun in ihrem Ablauf wieder deutlich verlangsamt, die Beine werden einzeln und unsicher aufgesetzt. Der Gang erscheint abgehackt und unkoordiniert. Beim Anheben der Rückenhaut erfolgt keine Reaktion zur Beugehaltung *. Das Tier achtet

* Nach G. G. I. Rademaker (3) bewirkt Anheben der Rückenhaut beim stehenden intakten und großhirnlosen Hunde ein augenblickliches Sich-Niederlegen in Bauchlage. Das gleiche Verhalten ist auch bei normalen und entrindeten Katzen festzustellen (Rademaker, Girndt). Wie Rademaker in seiner Monographie „Das Stehen" ausführt, handelt es sich bei dieser Reaktion um eine der zahlreichen, von ihm eingehend untersuchten und analysierten Beeinflussungsmöglichkeiten des Stützstonus durch sensible, akustische und optische Reize. Das Fehlen dieser Reaktion unter Harmin läßt eine Wirkung dieses Alkaloids auf die den Stützstonus regulierenden Apparate vermuten, da sie sonst bei unseren Versuchstieren mit absoluter Sicherheit auszulösen war.

jetzt wieder auf Geräusche, schrickt auf laute Schallreize zusammen und knurrt laut bei Berührung und Festhalten. Die Salivation hat nachgelassen, der Tremor ist unverändert.

Nach 51 Min.: Hält nach einigen Schritten regelmäßig inne und bleibt in extremer Streckhaltung unter starkem Zehenspreizen kurze Zeit stehen. Der Muskeltonus ist gesteigert. Die Gehbewegungen werden nun zunehmend zögernd ausgeführt; schließlich bleibt das Tier in Streckhaltung stehen und macht gleichsam Ansätze zum Vorwärtsgehen, ohne die angedeutete Bewegung auszuführen. Läßt sich dann in Bauchlage nieder und streckt alle Extremitäten am Körper entlang nach vorne. Anfallsweise treten nun Perioden stärkster Streckstellung der Extremitäten mit hochgradigem Krallenspreizen auf. Auch in Rückenlage ausgesprochene Streckstellung und Tonussteigerung. Die Sehnenreflexe sind etwas lebhafter, der Tremor ist von unveränderter Stärke und ist an Kopf und Extremitäten während der Bewegung besonders ausgeprägt. Die Salivation hat aufgehört.

Nach 57 Min.: Richtet sich unter starkem Intensionstremor steifbeinig auf, fällt nach kurzem Stehen um und bleibt mit dem Hinterkörper in Seitenlage liegen. Der Vorderkörper ist aufgerichtet, die Vorderbeine sind seitwärts abgestreckt und führen „rudernde" Bewegungen aus. Die Hinterbeine liegen ruhig in Streckstellung, zeigen zeitweise starkes Zehenspreizen. Der Tremor ist in Ruhe geringer, wird jedoch hin und wieder ohne Bewegungsäußerung anfallsweise stärker. Das Tier liegt nach einiger Zeit bewegungsarm da, kneift die Augen zu und achtet nicht mehr auf Geräusche. Der Halsstellreflex auf den Hinterkörper und der Körperreflex auf den Körper sind zeitweise erloschen bzw. stark abgeschwächt. Beim Fallumdrehreflex fällt der Hinterkörper auf die Seite.

Nach 110 Min.: Unveränderte Lage und Bewegungsarmut. Der Ruhetremor ist geschwunden. Das Tier achtet mit Kopfwenden und Zusammenzucken auf Geräusche und richtet sich nach einiger Zeit in Streckhaltung auf, während der Bewegung wieder deutlicher Kopf- und Extremitätentremor. Setzt sich in normaler Beugehaltung in Bauchsitzlage und bleibt bewegungslos sitzen. Knurrt bei Berührung.

Nach 280 Min.: Sitzt unverändert, achtet auf Geräusche ohne schreckhaftes Zusammenzucken.

Nach 320 Min.: Richtet sich langsam in normaler Haltung auf und geht in normaler Gangart umher.

Ergebnis.

0,010 g Harmin. hydrochlor. pro kg führen zu langanhaltendem, überaus starkem Bewegungstrieb, in dem das Tier ruhelos umherwandert, ohne durch Schall- oder Berührungsreize irgendwie beeinflußt werden zu können. Dabei werden die langsamen, steifen Bewegungen anfallsweise zunehmend schneller und führen zu heftigen Propulsionen. Die Bewegungsphase klingt langsam mit motorischer Unruhe ohne Lokomotion und eigentümlichen „Ruder"-Bewegungen der abgestreckten Extremitäten ab und geht in langanhaltende Bewegungsarmut über, in der außer verminderter Reaktion auf Schallreize keine euphorischen Äußerungen beobachtet werden konnten. Bewegungsdrang, Streckhaltung und Tonusäußerungen sind gegenüber dem normalen Tier wesentlich stärker, während der Tremor, die Salivation und die Lage- und Bewegungsreaktionen das gleiche Verhalten zeigen.

Protokoll 3.

Tier „M" 3,2 kg. — Versuch vom 21. 4. 1937.

14 Uhr: Vorversuch: Geht in normaler, elastischer Gangart an den Wänden entlang, achtet auf Schallreize durch Kopfwenden oder Stehenbleiben. Setzt sich und putzt sich lange Zeit. Ängstliches Knurren und Fauchen bei Berührung und Aufheben.

15 Uhr: 0.020 g Harmin. hydrochlor. pro kg subcutan. Wütendes Schreien, Fauchen und Abwehr während der Injektion, beruhigt sich sogleich wieder und bleibt sitzen.

Nach 17 Min.: Bisheriger Verlauf ohne Besonderheiten. Das Tier geht in Extensionshaltung umher. Die Bewegungen werden nun zunehmend schneller und führen zu anfallsweisen heftigen Pro- und Lateralpulsionen. Nach einiger Zeit wird das seitliche Schwanken hochgradig, das Tier steuert mit kreisendem Schwanze, die Gehbewegungen werden vollkommen unsicher und ausfahrend; schließlich fällt das Tier in Seitenlage um, richtet sich in Bauchlage mit seitwärts abgestreckten Extremitäten auf und bleibt dann liegen.

Nach 25—95 Min.: Zunächst noch anhaltende Aufrichtungsversuche mit grotesken Körperhaltungen und geringem Retropulsieren, dann in unveränderter Lage motorische Unruhe mit eigentümlichen „Ruderbewegungen" der steif abgestreckten Vorderbeine mit vereinzelten choreatiformen Bewegungen der beiden Vorderextremitäten. Nach einem Aufrichtungsversuch nimmt das Tier Seitenlage ein, die Extremitäten sind abgestreckt. Periodenweise treten nun Anfälle starker tonischer Streckhaltung der Extremitäten mit starkem Krallenspreizen auf. Die Sehnenreflexe sind etwas lebhaft, die Pupillen weit, die Atmung beschleunigt. Die Reaktionen auf sensible Reize sind abgeschwächt. In Rückenlage starke Streckstellung aller Extremitäten. Die tonischen Reflexe beim Drehen des Kopfes sind während der tonischen Streckanfälle nicht auslösbar. Der Halsstellreflex auf den Hinterkörper ist aufgehoben.

Nach 95—200 Min.: Beginnt nach einiger Zeit wieder auf Geräusche zu achten und schrickt bei lauten Schallreizen zusammen. Der Tremor zeigt anfallsweise stärkste Zunahme. Nach motorischer Unruhe versucht das Tier sich steifbeinig aufzurichten und beginnt auf der Hinterhand rutschend zu retropulsieren, dabei kommt es nach starkem Aufrichten des Vorderkörpers regelmäßig zum Überschlagen des Tieres nach rückwärts. Es rollt über seinen Hinterkörper ab. Die Aufricht- und Bewegungsversuche werden trotz des ununterbrochenen Überschlagens immer wieder fortgesetzt. Während der Bewegungen Zunahme des Kopf- und Extremitätentremors. Zuletzt gelingt es dem Tier unter starkem Schwanken steifbeinig umherzugehen.

Nach 200—270 Min.: Der Bewegungsdrang des Tieres ist geringer geworden, nach längerem Stehen in Streckhaltung setzt es sich in normale Bauchlage mit gebeugten Extremitäten und bleibt bewegungsarm sitzen. Der Speichelfluß hat aufgehört; außer geringem, feinschlägigem Tremor des Kopfes besteht kein Tremor mehr. Das Tier achtet kaum auf Geräusche, läßt sich ohne Reaktion berühren und macht einen schläfrigen Eindruck. Die Reaktionen auf sensible Reize sind stark abgeschwächt.

Nach 270 Min.: Richtet sich mehrmals in hohe Streckhaltung auf, setzt sich nach kurzem Stehen wieder. Während der Bewegung noch deutlicher grober Tremor des Kopfes und der Extremitäten.

Nach 320 Min.: Sitzt unverändert, achtet wieder normal auf Geräusche und knurrt bei Berührung.

Nach 390 Min.: Richtet sich auf und geht, nach Gähnen und Gliederstrecken, in normaler Gangart langsam umher. Verhält sich wie vor dem Versuch.

Ergebnis.

Der Ablauf der Wirkung von 0,02 g Harmin. hydrochlor. zeigt in gleicher Weise wie beim intakten Tier eine gewisse Rückläufigkeit des motorischen Vergiftungsbildes. Außer den übrigen motorischen Veränderungen kommt es, nach heftigen Pro- und Lateralpulsionen, zu einem an cerebelläre Zustände erinnernden Schwanken des Tieres während des steifbeinigen Umherwanderns. Neben „rudernden" Bewegungen der seitlich abgestreckten Extremitäten waren im weiteren Verlauf wiederholt schnelle, choreatiforme Bewegungen der Vorderbeine zu beobachten. Die periodenweise Verstärkung der Streckhaltung mit Krallenspreizen und Tonussteigerung nimmt auf der Höhe der Vergiftung hochgradige, fast krampfartige Ausmaße an. Das in der zweiten Bewegungsphase ausgesprochene steife Retropulsieren bzw. Rückwärtsrutschen führt zu einem dauernden Abrollen des Tieres von der Unterlage und Überschlagen nach rückwärts, ähnlich den Rollkrämpfen, die Girndt und Lempke (5) unter hohen Morphingaben bei ihren großhirnlosen Katzen auftreten sahen.*

Protokoll 4.

Tier „H" 2,3 kg. — Versuch vom 27. 4. 1937.

14 Uhr: Vorversuch: Geht langsam in normalem Gang umher, achtet kaum auf laute Geräusche, bleibt zeitweilig, den Kopf nach rückwärts gedreht, minutenlang bewegungslos stehen. Knurrt bei längerem Festhalten. Auf Schwanzkneifen lautes Schreien.

15 Uhr: 0,035 g Harmin. hydrochlor. pro kg subcutan.

Nach 30 Min.: Üblicher bisheriger Verlauf. Der Bewegungsdrang läßt nach. Nach kurzem Stehenbleiben setzt sich das Tier mit steif nach vorne abgestreckten Extremitäten auf die Hinterhand. Der Tremor ist periodisch verstärkt. Anfallsweise tritt an sämtlichen Extremitäten stärkstes Krallenspreizen auf. Beginnt nach einiger Zeit in unveränderter Haltung zu retropulsieren, dabei Zunahme des Tremors an Kopf und Extremitäten. Stößt wiederholt klägliche Laute aus und schrickt auf Geräusche zusammen. Richtet sich in Streckhaltung auf und bleibt mit gespreizten Krallen etwa 10 Minuten lang bewegungslos stehen. In Rückenlage gebracht behält das Tier die tonische Streckhaltung und das Zehenspreizen bei.

Nach 48 Min.: Beginnt in aufrechter Haltung unter ständigem Schwanzkreisen zu retropulsieren, fällt mit dem Hinterkörper in Seitenlage und bleibt ohne Bewegungsäußerung liegen. Tremor und Salivation unverändert. Die Pupillen sind weit, die Atmung ist stark beschleunigt.

Nach 80—140 Min.: Stellung unverändert. Vermehrte motorische Unruhe ohne Lokomotion; während der wischenden Bewegungen der Vorderbeine Zunahme des Tremors. Nach einiger Zeit erneute Anfälle von stärkster Streckhaltung der Extremitäten mit Krallenspreizen; dabei werden die Beine mehrmals über 1 Minute lang in die Luft gestreckt. Die tonischen Hals- und Labyrinthreflexe sind nicht auslösbar. Anschließend versucht das Tier dauernd sich aufzurichten, fällt dabei immer wieder mit dem Hinterkörper in Seitenlage. Bleibt zuletzt mit schneller Atmung in Seitenlage liegen. Der Halsstellreflex auf den Hinterkörper ist nicht auslösbar, der auf den Vorderkörper abgeschwächt.

---

* Siehe Archiv-Film der Reichsstelle f. d. Unterrichtsfilm „Die Wirkung des Morphins an der chronisch-großhirnlosen Katze".

Nach 144 Min.: Springt plötzlich auf und hüpft mit steifen hopsenden Sprüngen stark schwankend einige Schritte, fällt wieder in Seitenlage und bleibt bewegungslos liegen.

Nach 150 Min.: Seitenlage. Tremor und motorische Unruhe nehmen zu. Nach Streckstellung mit anfallsweisem Krallenspreizen setzt plötzlich ein rein tonischer Krampfanfall mit starkem Opisthotonus ein, der nach 40 Sekunden in ein schnelles, etwa $^1/_2$ Minute dauerndes Schlagen der stark gestreckten Extremitäten übergeht. Die Extremitäten schlagen dabei einzeln völlig unabhängig voneinander. Kopf und Unterkiefer sind an den Krampfbewegungen beteiligt. Die Pupillen sind weit und reaktionslos, die Atmung stark beschleunigt und hachelnd. Vor dem Munde ist geringe Schaumbildung zu beobachten. Sofort nach den schnellen Krampfbewegungen ist der Tremor in unveränderter Stärke wahrnehmbar. Die Sehnenreflexe sind etwas lebhaft. Kurz nach dem Anfall treten alternierende Laufbewegungen auf.

Nach 160—200 Min.: In wechselnden Abständen von 5—10 Minuten erfolgen eine Reihe in Ablauf und Dauer dem ersten entsprechende Anfälle. Zwischen den einzelnen Krampfattacken bestehen anhaltend alternierende Laufbewegungen.

Nach 205 Min.: Nach dem eben abgeklungenen Anfall kommt es nur noch zu einzelnen Laufbewegungen der Vorderbeine, die nach kurzer Zeit ebenfalls aufhören. Tremor und Streckstellung sind geschwunden. Das Tier liegt mit weiten, träge reagierenden Pupillen und schlaffen Extremitäten bewegungslos in Seitenlage.

Nach 215 Min.: Zustand unverändert. Die Sehnenreflexe sind nicht auslösbar, die Lage- und Bewegungsreaktionen erloschen. Die Atmung ist tief und langsam. Auf starkes Pfotenkneifen erfolgt keine Reaktion.

Nach 220 Min.: Die Atmung wird unregelmäßig und setzt aus. Zyanose und Herzstillstand.

Nach 222 Min.: Totenstarre in den Vorderbeinen.

Ergebnis.

0,035 g Harmin. hydrochlor. führen nach Krampfanfällen und vollständiger Lähmung zum Tode des Tieres. Die Krämpfe erscheinen zu einem Zeitpunkt, bei welchem die Wirkung krampfmachender Dosen beim normalen Tier bereits im Abklingen ist und sind keine Erstickungskrämpfe. Die zunächst rein tonischen Krampfanfälle gehen regelmäßig in schnelle Krampfbewegungen über, die, wie die Filmanalyse erkennen läßt, frei von klonischen Zuckungen sind und in wirrem, ungleichmäßigem Schlagen der gestreckten Extremitäten nach Art unregelmäßiger Laufbewegungen bestehen.

Rückblick.

Die motorischen Vergiftungserscheinungen waren bei den drei großhirnlosen Tieren völlig gleichartig. Die Wirkungsunterschiede gleicher Gaben zwischen den einzelnen Striatum-Katzen hielten sich in denselben Grenzen wie bei den normalen Tieren. Die Giftempfindlichkeit, gemessen an der eben wirksamen (0,001 g pro kg) bzw. der letalen Gabe (0,035 g pro kg) und an der durchschnittlichen Wirkungsdauer, war erhöht. Gewöhnungserscheinungen bei den allerdings in großen Zeitabständen und mit wechselnden Dosen behandelten Tieren waren nicht zu beobachten.

Gaben unter 1 mg pro kg Tier waren ohne sicher feststellbare Wirkung. 1—2 mg pro kg Tier führten bei allen Tieren nach einer Periode gesteigerter Beachtung akustischer Reize ohne nennenswerten Bewegungsdrang zu vorübergehend angedeuteter Streckhaltung der Extremitäten, geringem, gleichmäßigem Körpertremor und etwas steifem Gang. Geringe Salivation war nur bei einem Tier zu beobachten.

Nach Gaben von 3 mg tritt bereits das vollentwickelte Vergiftungsbild mit mehr oder minder angedeutetem Erregungszustand, Bewegungsdrang und anschließender Bewegungsarmut in Erscheinung Die Bewegungen der initialen Beugehaltung und während des Kriechgangs werden verlangsamt und eigentümlich zögernd ausgeführt. Die Extensionshaltung mit gekrümmter Wirbelsäule setzt ebenfalls zuerst an den Hinterextremitäten ein. Die verlangsamten Bewegungen in der Streckhaltung sind eigentümlich steif und unkoordiniert, die einzelnen Bewegungsabläufe beim Gehen erscheinen abgehackt. Extensionshaltung. Bewegungsveränderungen, Stärke und Dauer des Bewegungsdrangs sind gegenüber den gleichen Erscheinungen des normalen Tiers wesentlich ausgeprägter. Tremor und Salivation zeigen das gleiche Verhalten.

Mit steigenden Gaben bis zu 8 mg pro kg Tier nehmen die Vergiftungserscheinungen in der Regel nur an Stärke und Dauer zu; vereinzelt traten jedoch in diesem Dosenbereich bereits Tonussteigerungen mit Krallenspreizen auf. Das hochgradige Schwanken der Tiere beim Laufen erinnert stark an Zustände von cerebellärer Ataxie.

Bei Gaben über 10 mg pro kg ist regelmäßig eine periodenweise Steigerung des Muskeltonus vorhanden; weiterhin beherrscht der Bewegungsdrang und die motorische Unruhe das Vergiftungsbild. Die anfallsweise auftretenden Pro- und Lateralpulsionen sind von besonderem Ausmaße. Die Lokomotionsbewegungen der Tiere werden dabei, ohne ihren Charakter zu verlieren, zunehmend schneller und enden in heftigen Pulsionen, nach deren Ablauf es zunächst wieder nach langsamem, typischem Gang und zunehmendem Schnellerwerden der Einzelbewegungen zu den gleichen Erscheinungen kommt. Diese Bewegungsäußerungen sind im Wirkungsablauf beim normalen Tier ebenfalls angedeutet, erreichen aber nie diese Heftigkeit. Das in diesem Dosenbereich ebenfalls auftretende Retropulsieren mit abgestreckten Extremitäten und langsamen Bewegungen unterscheidet sich zunächst in keiner Weise von dem Rückwärtsgang normaler Katzen.

Mit steigenden Harmingaben bis zu 30 mg pro kg Tier nehmen nun die Bewegungen auch beim Retropulsieren an Schnelligkeit zu und führen regelmäßig zu einem an Rollkrämpfe erinnernden Überschlagen der Tiere: nach einigen retropulsierenden Bewegungen sämtlicher Extremitäten bleibt der Hinterkörper mit nach vorne abgestreckten Beinen fixiert, die Vorderbeine führen weitere Bewegungen aus, der Vorderkörper wird steif aufgerichtet und das Tier rollt unabgebremst über den Hinterkörper ab, richtet sich wieder auf, retropulsiert wieder usf. Die übrigen Symptome

nehmen lediglich an Stärke und Dauer zu; insbesondere traten bei den für das normale Tier sicher krampfmachenden Dosen über 18 mg pro kg keinerlei Krampfbewegungen auf. Erst nach Gaben von über 25 mg pro kg Tier waren kurze Anfälle tonischer Streckhaltung der Extremitäten mit stärkstem Krallenspreizen ohne sonstige Zeichen von Krampfbewegungen zu beobachten, wie sie in diesem Ausmaße im Vergiftungsbild des normalen Tiers nicht vorkamen. Die tonischen Reflexe beim Drehen des Kopfes waren während dieser Zustände nicht auslösbar. Die Annahme von Joël und Arndts (6), daß der Hirnrinde normalerweise eine hemmende Wirkung auf die Entstehung von Krämpfen zukomme, kann für die Harminkrämpfe nicht bestätigt werden; denn alle drei Katzen ohne Großhirn zeigten trotz der im übrigen gesteigerten Giftempfindlichkeit im Bereich der für das intakte Tier bereits krampfmachenden Dosen keine gesteigerte Krampfbereitschaft. Außer den „Ruderbewegungen" waren in diesem Dosenbereich bei zwei Tieren schnelle, choreatiforme Bewegungen der Vorderextremitäten zu beobachten.

35 mg Harmin pro kg führten etwa $2^1/_2$ Stunden nach der Injektion, also zu einem Zeitpunkt, bei dem die krampfmachende Wirkung gleicher Dosen beim normalen Tier längst vorüber ist, zu wiederholten Krampfanfällen und im Anschluß daran zum Tode des Tieres. Die Krampfbewegungen haben, verglichen mit denen normaler Katzen, völlig verschiedenen Charakter. Ihre Analyse mit der Zeitlupenaufnahme zeigt, daß sie frei von klonischen Zuckungen sind und in einem unregelmäßigen Schlagen der Extremitäten ohne rhythmische Beteiligung von Kopf und Unterkiefer bestehen. Sie gleichen weitgehend Anfällen von unregelmäßigen Laufbewegungen bzw. Zappelbewegungen und erreichen nicht die Heftigkeit der Harminkrämpfe des normalen Tieres. Die Anfälle traten spontan auf und waren nicht durch irgendwelche äußere Reize auslösbar. Zwischen den Abständen wechselten die alternierenden Laufbewegungen mit kurzen Abständen tonischer Streckhaltung der Extremitäten. Das anfallsweise Auftreten dieser Krampfbewegungen war nicht regelmäßig: Die Katze „K" zum Beispiel zeigte nach 40 mg pro kg, lange Zeit vor dem Lähmungsstadium, lediglich zwischen Laufbewegungen vereinzelt kurze Krampfbewegungen gleichen Charakters. Mit beginnender Lähmung schwinden zuerst die Streckanfälle, dann die Laufbewegungen, und zwar zunächst die der Hinterbeine, zuletzt die Zitterreaktion; die Extremitäten liegen schlaff auf der Unterlage, die Sehnenreflexe sind nicht mehr auslösbar. Der Tod erfolgt anscheinend durch Atemlähmung.

Die Lage- und Bewegungsreaktionen zeigen in den einzelnen Phasen ein dem bei normalen Tieren analoges Verhalten. Sehnenreflexe, Tremor und Salivation zeigen ebenfalls in Verlauf und Stärke keine nennenswerten Unterschiede.

Das Vergiftungsbild des chronisch-großgehirnlosen Tiers läuft ferner bei äquivalenten Harmingaben in den gleichen Phasen ab wie das der normalen

Katze. Nach kurzer Erregung, langanhaltendem Bewegungsdrang und motorischer Unruhe kommt es zu ausgesprochener Bewegungsarmut. In mehreren Versuchen war ebenfalls eine Rückläufigkeit des Wirkungsverlaufs zu beobachten. Die kurze initiale Erregung der Tiere, die in dem untersuchten Dosenbereich ihren Ausdruck in dem erregten und unruhigen Umherwenden des geduckt gehaltenen Kopfes, der Hyperakusis, den vereinzelten Lautäußerungen, der Beugehaltung bzw. dem unruhigen Kriechgang findet, ist unverkennbar, wenn ihr auch andere psychische Veränderungen, wie das ausgesprochene ängstliche Gebaren, das klägliche Miauen und Schreien, die Eckenflucht, die Verkriechungstendenz und die wütenden bzw. ängstlichen Abwehrreaktionen der normalen Katzen unter Harmin fehlen. Der Grad der Erregung der Striatumtiere war lediglich in geringem Ausmaße von der Dosenhöhe anhängig; bestimmend dafür war vielmehr in erster Linie das normale affektive Verhalten des einzelnen Tieres.

Katze „M", das Tier mit der am stärksten ausgeprägten Affektivität, zeigte mitunter Erregungszustände, die denen intakter Katzen weitgehend glichen; sie äußerten sich in erregtem Gesichtsausdruck, stärkster Schreckhaftigkeit, Knurrlauten und angedeuteter Fluchtreaktion, in Schleich- und Kriechgang. Bei dem affektärmsten Tier (Katze „K") kam die psychomotorische Erregung lediglich in unruhigem Kopfwenden und vereinzelten „zirpenden" Lautäußerungen zum Ausdruck.

Die geschilderten Erregungssymptome chronisch-großhirnloser Tiere treten kurz nach der Injektion auf und schwinden, im Gegensatz zum normalen Tier, in der Regel mit einsetzendem Bewegungstrieb. In einigen Versuchen waren jedoch auch während des Bewegungsdranges vereinzelte, klägliche Lautäußerungen und gesteigerte Schreckhaftigkeit auf akustische Reize festzustellen. Auf Festhalten oder Schmerzreize reagierten die Tiere in diesem Stadium meist mit verminderter Abwehr und schwächeren Wutäußerungen. Bewegungstrieb und motorische Unruhe der chronischen Striatumkatzen im ersten Teil des Vergiftungsbildes waren bei den kleineren und mittleren Gaben am ausgesprochensten, in allen Dosenbereichen jedoch wesentlich stärker und von längerer Dauer als bei den normalen Tieren. Desgleichen waren bei äquivalenten Gaben die Extensionshaltung, die Extremitätensteifheit, die Veränderungen der Motorik, die Pulsionen usw. wesentlich ausgeprägter. Der Übergang zu dem Stadium der Bewegungsarmut erfolgt bei nichtkrampfmachenden Gaben allmählich. Bei allen drei Tieren war in dieser Phase die Ansprechbarkeit auf sensorische und sensible Reize herabgesetzt. Euphorische Zustände wurden niemals beobachtet. Die Nebenwirkungen (Erbrechen, Stuhl- und Urinabgang usw.) waren die gleichen wie bei den intakten Katzen.

Schlußfolgerungen.

Harmin löst an der großhirnlosen Katze im chronischen Versuch, abgesehen von einigen konstanten Abweichungen, das gleiche Vergiftungsbild aus wie beim Tier mit intaktem Gehirn. Das gilt insbesondere für die Wir-

kungen dieses Alkaloids auf die Motorik. Die Bewegungsäußerungen unter Harmin zeigen beim Tier ohne Neocortex — außer der fehlenden klonischen Krampfkomponente —, wenn überhaupt, nur graduelle Unterschiede gegenüber denen der normalen Katzen. Während nach äquivalenten Harmindosen hinsichtlich Art und Stärke des Tremors keine Unterschiede zwischen den beiden Kategorien festzustellen waren, sind die übrigen motorischen Erscheinungen, wie Extensionshaltung, Extremitätensteifheit, Zehenspreizen, beim entrindeten Tier wesentlich ausgesprochener als bei normalen bzw. zum Teil in einer bei letzteren niemals beobachteten Stärke vorhanden, z. B. die Propulsionen und die bis zum Überschlagen der Tiere nach rückwärts gesteigerten Retropulsionen. Das gleiche gilt für den im Beginn der Vergiftung in Erscheinung tretenden vermehrten Bewegungsdrang. Im übrigen vollzieht sich der Wirkungsablauf in den gleichen Stadien. Die anfängliche Erregungsphase äußert sich bei den operierten Tieren in den selben motorischen Äußerungen wie bei den intakten, nämlich in Verharrung in Beugehaltung mit unruhigem Hin- und Herwenden des gesenkten Kopfes, Kriech- und Schleichgang, Schreckhaftigkeit und mitunter erregtem Gesichtsausdruck. Nur die, sensorische Rindengebiete voraussetzenden zielbewußten Flucht- und Affektreaktionen, wie Eckenflucht, In-Deckung-Gehen, spontane Abwehr fehlen begreiflicherweise. Auch das klägliche Schreien und Miauen der normalen Tiere wurde vermißt, wenn auch die großhirnlosen Katzen in diesem Stadium Laute scheinbaren Mißbehagens von sich geben. In der anschließenden Phase des gesteigerten Bewegungsdranges fehlen in der Regel Äußerungen psychischer Erregung. Bei Abklingen der Vergiftung läßt sich häufig ein nochmaliges Durchlaufen der vorhergegangenen Stadien in umgekehrter Reihenfolge feststellen. Das Wirkungsbild des Harmins bei der großhirnlosen Katze im chronischen Versuch ist also ein sehr mannigfaltiges und unterscheidet sich somit weitgehend von dem bei akut-entrindeten Tieren beschriebenen [Kadoyama (7), Sato (8)]*. Die Ursache für diese unterschiedlichen Ergebnisse liegt, abgesehen von den durch Verwendung einer anderen Tierart (Kaninchen) bestimmten unwesentlichen Abweichungen der Vergiftungsbilder, in der Unzulänglichkeit akuter, noch unter Schock stehender großhirnloser Tiere für die Analyse pharmakologischer Wirkungen am Zentralnervensystem.

Die Tatsache, daß sich sämtliche Wirkungen des Harmins auf die Motorik der normalen Katze, mit Ausnahme der klonischen Krampfanfälle, am Tier ohne Neocortex reproduzieren lassen, beweist, daß sie nicht an das Vorhandensein der Großhirnrinde gebunden sind. Bei den in Frage kommenden Angriffsorten kann es sich also nur um subkortikale Zentren der Motorik handeln. Bezüglich des Bewegungstriebes und der auch beim

* Näheres siehe I. Mitteilung, dort S. 378.

großhirnlosen Tier zu beobachtenden Veränderungen der Affektivität wird eine direkte Wirkung des Harmins auf das im Thalamus bzw. Hypothalamus lokalisierte Zentrum des motorischen Haushalts [Schaltenbrand (9)] bzw. auf das in der Wandung des dritten Ventrikels zu suchende „Zentrum der elementaren motorischen und psychischen Aktivität" [Lotmar (10)] angenommen, während die übrigen motorischen Erscheinungen, wie Tremor, Extremitätensteifigkeit usw. als Ausdruck einer unmittelbaren Erregung des extrapyramidalen Systems angesehen werden. Das Fehlen der kortikal bedingten klonischen Zuckungen im Krampfbild der entrindeten Katze zeigt jedoch, daß die Wirkung des Harmins nicht allein auf den Subcortex beschränkt ist, sondern auch auf die Rinde übergreift. So dürfte der beim rindenlosen Tier wesentlich stärker auftretende Bewegungstrieb durch Wegfall hemmender Impulse des Großhirns zu erklären sein. Die Ursache dieses gesteigerten Bewegungstriebes sehen wir in dem Fehlen erregender sensorischer Rindenimpulse, die beim normalen Tier mit dem ausgelösten Eckenflucht- und Verkriechungszwang den durch Harmin gesteigerten subkortikalen Bewegungsdrang weitgehend unterdrücken.

Die Besserung, die Rigor und Hypokinese beim Parkinsonkranken unter Harmin erfahren, kommt nach Halpern (11) ausschließlich durch Erregung der motorischen Apparate der Rinde zustande. Demgegenüber konnte an der Katze gezeigt werden, daß die Ausschaltung der Pyramidenbahn den Einfluß des Harmins auf den Muskeltonus und die Bewegungsproduktion nicht verändert, ja sogar z. T. steigert. Diese Feststellung spricht eindeutig gegen die These von der rein kortikalen Bedingtheit der therapeutischen Harmineffekte. Es muß sich dabei vielmehr um eine im wesentlichen das extrapyramidale System unmittelbar treffende Wirkung handeln. Auch das regelmäßige Auftreten von organischem Tremor bei normalen und entrindeten Katzen spricht gegen die Annahme von Halpern (11), daß dieses ebenfalls beim Menschen zu beobachtende Vergiftungssymptom auf „toxischer Ausschaltung der kortikalen Dominanz" über die „subkortikale Motorik" beruhe. Die erregende Wirkung des Harmins auf das extrapyramidale System macht weiterhin verständlich, daß eine Besserung des Parkinsontremors mit Harmin nicht erzielt wurde.

Zusammenfassung.

1. Harmin ruft an chronisch-großhirnlosen Katzen die gleichen motorischen und psychomotorischen Veränderungen hervor wie an intakten Tieren, mit Ausnahme der klonischen Krampfbewegungen. Daraus folgt, daß Harmin, unabhängig von seiner kortikalen Wirkung, unmittelbar am extrapyramidalen motorischen System, sowie den subkortikalen, Bewegungsproduktion und elementare Affektivität beherrschenden Apparaten angreift.

2. Die therapeutische Wirkung des Harmins beim Parkinsonismus besteht daher in einer Steigerung des subkortikalen motorischen und psychischen Bewegungsantriebs.

Literatur.

1) Dusser, I. G., de Barenne: Arch. néerld. Physiol. **4**, 31—121 (1920). — 2) Girndt, O., u. H. Lempke: Pflügers Arch. **239**, 544—565 (1937). — 3) Rademaker, G. G. I.: „Das Stehen", Verlag Jul. Springer, 1931; Hdb. d. Neurologie v. Bumke u. Foerster, 2. Bd.: Allg. Neurologie II, S. 187ff. (1937). — 4) Schaltenbrand, G., u. St. Cobb: Brain **53**, 449—488 (1931). — 5) Girndt, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **181**, 142 (1936). — 6) Joel, E., u. F. Arndts: Pflügers Arch. **210**, 293 (1926). — 7) Kadoyama, Ch.: Tôhoku J. exper. Med. (Jap.) **17**, 1 (1931). — 8) Sato, M.: Ebenda **26**, 161—163 (1935). — 9) Schaltenbrand, G.: Dtsch. Z. Nervenhk. **108**, 209—244 (1929). — 10) Lotmar, F.: Die Stammganglien und die extrapyramidal-motorischen Syndrome. Berlin, Jul. Springer, 1926, dort S. 84. — 11) Halpern, L.: Dtsch. med. Wschr. **1930**, S. 1252ff.

Aus der Nervenabteilung der Medizinischen und Nervenklinik der Universität Würzburg. (Leiter: Prof. Dr. med. G. Schaltenbrand.)

Mikroskopische Untersuchung der von A. Beer beschriebenen drei Katzen ohne Neocortex.

Von

Dr. med. **Gertrud Bergner.**

Mit 17 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. Juli 1939.)

Die Resthirne der in der vorangehenden Arbeit geschilderten, von O. Girndt zweizeitig operierten Katzen M., H. und K. wurden nach der Sektion in 70%igen Alkohol gelegt, in Photoxylin eingebettet und in Schnittserien von frontal nach kaudal zerlegt. Die Dicke der Schnitte schwankt zwischen 20 und 25 μ.

1. Katze M. (Muschi).

Vorbemerkungen. Entfernung der rechten Hemisphäre: 29. 7. 1935; Entfernung der linken Hemisphäre: 13. 12. 1935. Getötet: 14. 6. 1937.

Von dem Resthirn der Katze Muschi wurden insgesamt 128 Schnitte gefärbt, und zwar 69 nach Nissl, 59 nach Weigert-Pal; hinzu kommen noch 2 Rückenmarkschnitte in Markscheidenfärbung.

Auf den ersten Schnitten sind nur die Bulbi olfactorii zu sehen. Zunächst werden sie von der Operation nicht getroffen, sind aber von Anfang an geschädigt durch Gefäßverschlüsse. Schon zu Beginn sieht man einen Unterschied zwischen rechts und links. Der rechte färbt sich blasser, die Schichten sind stellenweise zellärmer als auf der linken Seite. Schnitt 4 zeigt im linken Bulbus olfactorius dorsal zystisches Narbengewebe mit Pigmentablagerung. Von ventral-lateral verläuft zur gegenüberliegenden Seite eine pigmentierte Narbe, die sich an den Verlauf eines obliterierten Gefäßes hält. Ventral-lateral fehlen die äußeren Schichten eine kleine Strecke, doch ist diese Schädigung sicher bei der Bearbeitung des Materials entstanden, da das umliegende Gewebe keinen narbigen Eindruck macht. Am rechten Bulbus olfactorius sind dorsal-medial die äußeren Schichten narbig, seitlich im ventralen Abschnitt geht die Verletzung bis auf die 5. Schicht, von hier verläuft eine pigmentierte Gefäßnarbe bis zum dorsalen Pol. Die 5. und 6. Schicht sind an dieser Stelle nicht mehr sicher zu trennen. Am ventralen Pol finden sich dieselben Verhältnisse. In beiden Bulbi olfactorii zeigen die großen Ganglienzellen zum Teil Schädigungen, die Fortsätze fehlen, das Protoplasma grenzt sich gegen die Umgebung nicht mehr deutlich ab und ist wabig verändert, die Kerne sind auffallend blaß. Im Markscheidenbild fällt die schwache Färbung des rechten Bulb. olf. auf.

Auf Schnitt 9 erscheinen Großhirnreste, die zum frontalen Anteil des Gyrus proreus gehören. Links bleibt etwas mehr erhalten, das Gebiet stellt die Area 12 dar (Area orbitalis medialis), weiter dorsal findet sich isoliert noch ein Geweberest, der

wahrscheinlich zum Gyrus genualis gehört (Area 6). Auf dieser Seite ist in der Area 12 die Rindenstruktur noch ganz gut erhalten, doch zeigen bei stärkerer Vergrößerung die Nervenzellen degenerative Veränderungen. Mit dem Rindengebiet wird der Bulb. olf. durch dünnes Narbengewebe verbunden. Die Area 6 enthält nur geschädigte Nervenzellen, nach dorsal schließt sich cystisches Narbengewebe an. Der frontale Anteil des rechten Gyrus proreus enthält keine Nervenzellen, ebenso bleibt ein kleiner Geweberest ohne Zellen, der der linken Area 5 gegenüberliegt. Am rechten Bulb. olf. zeigt der Lobus olf. ant. eine geringe Verletzung an seinem äußeren Rand. Im Bulb. olf. findet sich der cystisch erweiterte Ventrikel des Bulb. olf. Links fehlt der Lobus olf. ant. Man sieht an dieser Stelle eine Narbenschicht. Der linke Bulb. olf. enthält mehr Zellen als der rechte, das beruht rechts auf Ernährungsstörungen, die auf einen Gefäßverschluß zurückzuführen sind. Im Verlauf des verödeten Gefäßes finden sich Zellen mit Abbauprodukten.

Der frontale Großhirnanteil wurde von der Operation so betroffen, daß einzelne Rindengebiete noch bleiben, die jetzt untereinander mit cystischem Narbengewebe verbunden sind. Die Seitenventrikel sind offen nach frontal, der rechte wird anfangs von narbigem Gewebe dorsal überbrückt.

Abb. 1 (Schnitt 11). Katze *Muschi*. Vergrößerung 4½mal, Färbung nach Nißl.
1. Gyrus proreus. 2. Bulbus olfactorius. 3. Rindenrest im Narbengewebe (Area 4?). 4. Gyrus genualis.

Abb. 1 (Schnitt 11): Der Umfang der beiden Bulbi ist etwa derselbe geblieben, wie auf dem vorher beschriebenen Schnitt. Am linken Lob. olf. ant. fehlt noch immer der dorsale Teil, es finden sich an dieser Stelle starke Gliareaktionen. Auf der rechten Seite ist der Ventrikel Bulb. olf. noch weiter geworden. Der Lob. olf. ant. enthält eine Cyste im dorsalen Teil. Die schwächere Färbung und die schmaleren Schichten auf dieser Seite fallen schon makroskopisch auf. Im Zentrum sieht man noch immer die Zellen mit den Abbauprodukten. Die Großhirnteile sind sehr weit auseinandergedrängt. Links steht der Gyrus proreus, an seiner Spitze ist das Zellbild geschädigt durch Gefäßverschlüsse. Die Area 12 bleibt erhalten bis zum Sulcus praesylvius. Der atrophische Gyrus genualis enthält Cysten in der Area 32 und Area 6. Der Gyrus proreus besteht hier nur aus Rindengebiet, das dahinterliegende Markfeld ersetzt cystisches Narbengewebe. Der Seitenventrikel ist offen. Auf der rechten Seite steht der mediale Teil des Gyrus proreus, der in diesem Feld besser erhalten ist als auf der linken Seite. Die Area 12 wird von der Area 6 sehr weit abgedrängt. Dorsal bleibt ein Rindenrest, der im Grunde des Sulcus cruciatus liegt und wahrscheinlich zur Area 4 gehört. Am Rest der Area 6 zieht Narbengewebe nach der linken Seite zu dem entsprechenden Gebiet. Die Rindengebiete enthalten alle noch Nervenzellen, die zu einem großen Teil sicher noch funktionsfähig waren. In den dorsalen Rindenresten zeigen sie sehr starke krankhafte Veränderungen, sowohl in der Anordnung als auch in den Zellen.

Auf den folgenden Schnitten erscheint links der Nucleus caudatus. Der Operationsschnitt verläuft seitlich von ihm und verletzt ihn dorsal. Anfangs enthält

er noch viele Nervenzellen, die wenigen großen Ganglienzellen sind zum Teil geschädigt. Rechts wird der Nucleus caud. stark von der Operation betroffen und besteht ventral aus größeren Cysten. Anfangs enthält er keine normalen Nervenzellen, stellenweise sieht man Schatten großer Ganglienzellen, die mit Neuronophagen umgeben sind (Schnitt 20). Im Gebiet der inneren Kapsel liegen auf der rechten Seite Cysten, links ist das Feld sehr geschrumpft. Stärkere Faserbündel sind auch hier nicht zu sehen. Der linke Seitenventrikel bleibt offen, rechts wird er wieder von Narbengewebe überbrückt, in das vollständig degenerierte Rindengebiete eingeschlossen sind. Der Tractus olfactorius nimmt links ein größeres Feld ein als rechts.

Abb. 2 (Schnitt 21). Beide Bulb. olf. sind noch getroffen, der linke ist wieder in einem besseren Zustand als der rechte. Die Lob. olf. ant. haben sich mit dem

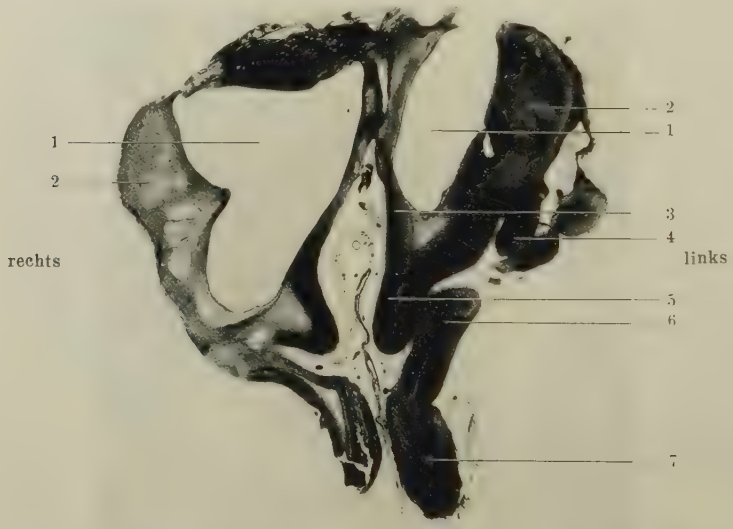


Abb. 2 (Schnitt 21). Katze *Muschi*. Vergrößerung $4^1/_2$ mal. Markscheidenfärbung.
1. Vorderhorn des Seitenventrikels. 2. Nucleus caudatus. 3. Gyrus genualis. 4. Gyrus orbitalis. 5. Gyrus proreus. 6. Lobus olfactorius anterior. 7. Bulbus olfactorius.

Großhirn vereinigt. Die noch stehende Großhirnrinde verläuft links vom Gyrus proreus nach lateral bis zum Sulcus orbitalis, medial bleibt der dünne Gyrus genualis. Die Rinde um den Sulcus orbitalis ist losgerissen. Der Operationsschnitt geht durch die innere Kapsel und den dorsalen Teil des Nucleus caudatus. Auf der rechten Seite findet man Rindengebiet mit Nervenzellen nur medial im Gyrus proreus. Der Gyrus genualis ist atrophischer als der linke. Weiter dorsal bildet sich die Lamina terminalis, doch sind die veränderten Zellen dieses Gebietes sicher nicht mehr voll funktionsfähig gewesen. Noch weiter dorsal schließt sich das Narbengewebe an, das den Seitenventrikel verschließt. Der Lob. olf. ant. ist mit dem lateralen Gebiet so verwachsen, daß der Sulcus rhin. ant. nicht entsteht. Der Seitenventrikel steht mit der großen Cyste in Verbindung, die im Markgebiet des Gyrus proreus liegt. Der Ventrikel wird lateral von verödetem, cystisch und narbig umgewandeltem Nervengewebe umgeben. Vom Nucleus caudat. bleibt etwa die Hälfte seines Gebietes von der Cyste verschont. Bei starker Vergrößerung sieht man links Narben im Verlauf von obliterierten Gefäßen an den ventralen Polen des Gyrus proreus und Gyrus orbitalis. Auch die ventrale Umgebung des linken Seiten-

ventrikels zeigt eine narbige Stelle. Die Rindengebiete enthalten links mehr Zellen als rechts. Deutliche Schädigung zeigen die Pyramidenzellen der Lamina 3; sie sind geschrumpft, so daß Kern und Protoplasma nicht mehr zu trennen sind, außerdem haben sie sich auffallend stark gefärbt. Auch in den anderen Schichten finden sich krankhaft veränderte Nervenzellen, an manchen Stellen sind sie von Neuronophagen umgeben. Am wenigsten geschädigt ist die Area 13 der linken Seite. Bei den Nuclei caudati bestehen große Seitenunterschiede. Auf der rechten Seite enthält der Nucl. caudat. nur in den Gebieten Zellen, die um den Ventrikel liegen und von den Cysten entfernt sind. Große Zellen sind kaum nachweisbar und die kleinen machen einen kranken Eindruck. Auf der linken Seite wird er besser mit kleinen Nervenzellen versorgt, hier sieht man um große Zellen Neuronophagen.

Etwas weiter caudal erscheinen im Markscheidenbild die inneren Kapseln sehr faserarm, rechts noch blasser als links. Von der Radiatio strio-thalamica haben sich nur wenige Fasern erhalten. Die Tractus olfact. enthalten noch immer Fasern.

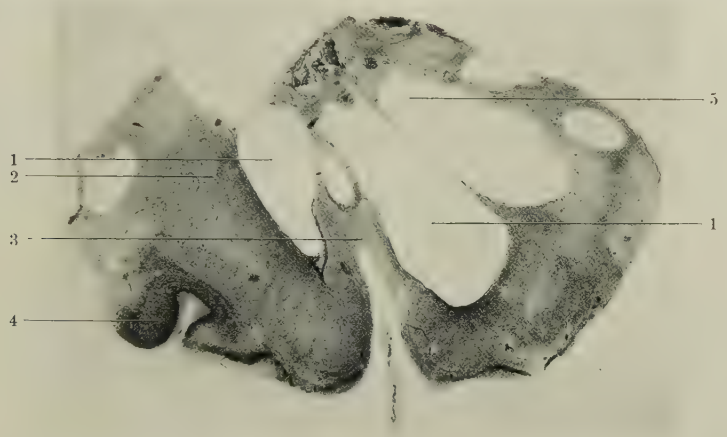


Abb. 3 (Schnitt 37). Katze *Muschi*. Vergrößerung $4^1/_2$mal. Färbung nach Nißl.
1. Seitenventrikel. 2. Nucleus caudatus. 3. Lamina terminalis. 4. Gyrus orbitalis. 5. Cyste im Gebiet des Nucleus caudatus.

Ein kleines faserhaltiges Gebiet beiderseits gehört zur vorderen Kommissur. Der Balken fehlt.

Abb. 3 (Schnitt 37). Der Operationsschnitt verläuft links im Gyrus orbitalis in der Nähe des Sulcus ectosylvius, durch den dorsalen Teil des Claustrum, das Putamen, die innere Kapsel und das dorsale Feld des Nucl. caudat. Der Seitenventrikel wird durch eine dünne Membran geschlossen. Rechts geht der Schnitt in der Rinde des Lobus piriform., durch den vollständig verödeten Gyrus orbitalis, den Stabkranz und den Gyrus fornicatus. In dem Narbengewebe, das den Seitenventrikel schließt, findet sich Gewebe des Plexus chorioideus. Der rechte Nucl. caudat. wird hier zum größten Teil durch eine Cyste ersetzt, die ein dünner Narbenstrang vom Seitenventrikel trennt. Auch im dorsalen Teil der Lamina terminalis liegt eine Cyste. Auf der rechten Seite sind Riechhirnanteile und Lamina terminalis sehr atrophisch, die Zellarmut im medialen Teil der Lamina terminalis fällt besonders auf. Bei starker Vergrößerung sieht man in den Riechhirnanteilen noch viele Nervenzellen, unter ihnen kranke. Links sind die Glangl. olf. Luysii etwas besser ausgebildet als rechts. Im linken Riechhirnanteil findet sich noch immer die kleine Narbe, die an den Ventrikel grenzt. Dieses Gebiet ist rechts zellreicher. Der

Nucl. caudat. zeigt links noch dasselbe Zellbild wie vorher. Rechts war er in diesem Gebiet kaum noch funktionsfähig, nur medial und dorsal stehen kleine Felder von ihm mit kranken Zellen. Man sieht auf beiden Seiten Zellen vom Globus pallidus. Rechts fehlt das Putamen, links reicht es in Narbengewebe hinein. Auch in diesen Gebieten finden sich viele kranke Zellen. Links sind große Claustrumzellen nachweisbar, die teilweise degenerative Veränderungen aufweisen. Im Narbengewebe über dem rechten Seitenventrikel liegen Rindengebiete des Gyrus fornicatus mit toten Zellen. Auf dem Markscheidenbild sieht man die typische Faserstruktur des Globus pallidus angedeutet.

Auf den folgenden Schnitten treten rechts Putamenzellen auf. Das Claustrum fehlt auf dieser Seite fast vollständig. Die vordere Kommissur nimmt nur ein schmales Feld ein, wenige Fasern der absteigenden Fornixschenkel und der Pedunculi thalami dorsales sind zu erkennen, links mehr als rechts. Der 3. Ventrikel ist von Anfang an sehr stark erweitert, so daß die absteigenden Fornixschenkeln weit auseinandergedrängt werden.

Auf Schnitt 48 erscheinen die frontalen Teile des Thalamus. Der Operationsschnitt verläuft links lateral vom Gyrus sylvius anterior, im Stabkranz, in der inneren Kapsel und wieder im dorsalen Nucleus caudatus. Rechts verläuft er etwas weiter lateral, doch ist hier das Gebiet verödet und dorsal cystisch, so daß nur eine dünne Gewebsbrücke die Cyste vom III. Ventrikel trennt. Dorsal liegt im Gebiet des Fornix ein Geweberest. Der III. Ventrikel und der Sulcus rhinicus medialis sind sehr stark erweitert. In dieser Höhe bildet sich der Nucleus reuniens. Die Regio innominata zeigt weitgehend krankhaft veränderte Zellen. Die Nuclei praethalamici sind gut ausgebildet. Die Nuclei parepend. enthalten teilweise geschädigte Zellen, besonders rechts, wo lateral davon eine Cyste liegt. In den Anteilen des Nucleus reuniens finden sich rechts mehr kranke Zellen als links. Die innere Kapsel läßt links kleine perivasculäre Infiltrate erkennen, besonders medial. Die Nuclei anteriores des Thalamus fehlen hier, rechts auch der Nucleus caudatus. Links besitzt er nur noch Schatten von Zell-Leichen. Medial enthält er eine kleine Cyste. Globus pallidus und Putamen enthalten auf beiden Seiten sicher noch funktionsfähige Zellen. Die Nuclei amygdalae machen auf diesem Schnitt einen normalen Eindruck. Rechts liegt in dem dorsalen Narbengewebe noch immer ein Rindenrest des Gyrus fornicatus mit toten Zellen.

Auf den folgenden Schnitten sieht man in den einzelnen Kernen des Thalamus nur wenige Zellen, die fast alle einen mehr oder weniger geschädigten Eindruck machen. Die Nuclei praethalamici zeigen die geringsten Zellveränderungen. Auf der rechten Seite finden sich im Nucleus medialis *b* zwar viele Zellen, aber die meisten sind krankhaft verändert; ebenso verhält es sich mit den Nuclei hab. und parepend. Der Nucleus ventralis enthält nur im caudalen Gebiet einige Zellen; zum größten Teil ersetzt ihn eine Cyste, die auch Gebiete der Nuclei centrales, laterales, anteriores und des Pulvinar einnimmt. In Höhe des Corpus geniculatum laterale endet die Cyste, es findet sich hier verödetes Gewebe; ventral sieht man perivasculäre Infiltrate. Im ganzen ist das wenige Gewebe, das vom Thalamus noch steht, geschrumpft. Links geht die primäre Schädigung nur bis in die Nuclei habenluae und anteriores und in den Pulvinar. Trotzdem sind auch hier die einzelnen Kerne sehr atrophisch und schwer zu diagnostizieren. Nuclei hab. und parep. verhalten sich wie auf der rechten Seite. Vom Nucleus medialis kann man die Teile *a* und *b* unterscheiden, im Nucleus centralis besitzt der Teil *a* einige Zellen, ebenso sind wenige Zellen im caudalen Teil des Nucl. ant. zu sehen. Alle Nuclei haben gemeinsam, daß ihre Zellen zum größten Teil so verändert sind, daß sie bei Lebzeiten des Tieres sicher nicht mehr voll funktionsfähig waren. Im Nucl. ventralis finden sich um die wenigen Zellschatten viele Neuronophagen. Dieser Kern ist besonders stark mit Gliazellen durchsetzt. Das Corp. gen. lat. zeigt anfangs auf der linken Seite dreischichtige Anordnung, bei starker Vergrößerung weisen die Zellen krank-

hafte Veränderungen auf. Rechts besitzt das Corp. gen. lat. nur blasse Zellschatten, die ungeordnet liegen. Einige große Zellen am Rande des Thalamus gehören zur Formtio reticulata.

Auf Schnitt 54 sieht man das Chiasma und die Tractus optici. Die Hinterhörner der Seitenventrikel sind sehr stark erweitert. Auf beiden Seiten bleiben die Lobi piriformes. Rechts verläuft der Operationsschnitt im Sulcus rhin. post. durch die Area 35. Der Seitenventrikel bleibt offen, er geht dann dorsal vom Corp. gen. lat., im Pulvinar und läßt ein kleines Gebiet vom Ammonshorn stehen. Der III. Ventrikel ist offen. Auch links wird das Corp. gen. lat. primär nicht verletzt. Der Schnitt geht durch den Pulvinar und den Nucl. lat. Auf der linken Seite strahlt der Tractus opticus in das Corp. gen. lat. ein. Von der Radiatio optica sind links wenige, rechts keine Fasern mehr vorhanden. Die Tractus Meynert sind auf beiden Seiten

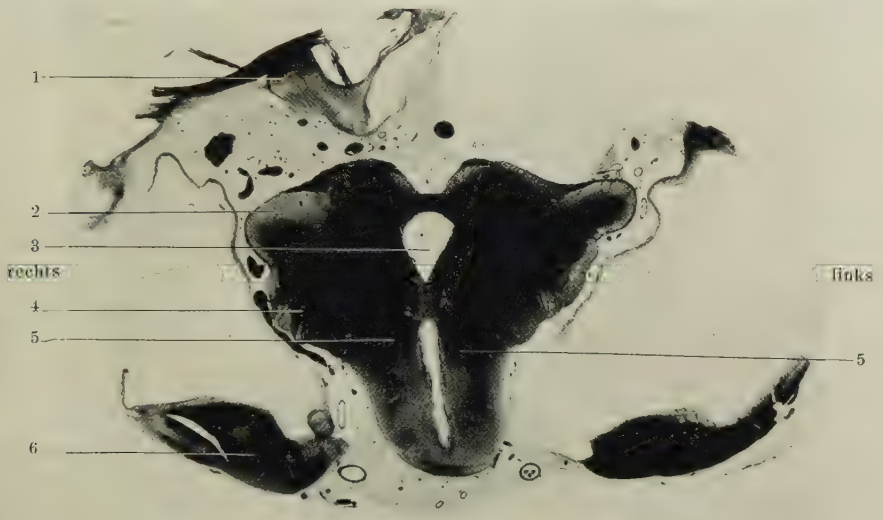


Abb. 4 (Schnitt 62). Katze *Muschi*. Vergrößerung $4^1/_2$mal. Markscheidenfärbung.
1. Ammonshorn. 2. Corpus geniculatum mediale. 3. Aquädukt. 4. Hirnschenkelfuß. 5. Viq d'Azyrsches Bündel. 6. Lobus piriformis.

gut erhalten. Im Feld der Viq d'Azyrschen Bündel und der absteigenden Fornixschenkel finden sich nur Schatten, Fasern kann man nicht mehr unterscheiden. Der Hypothalamus zeigt annähernd normale Faserstruktur. Einen sehr starken Faserausfall haben die Hirnschenkelfüße. Auf der linken Seite sieht man in ihnen einige Fasern mehr als rechts im dorsalen Gebiet. Links erscheint ein kleines Feld ventral vom Hirnschenkelfuß in der typischen Faserstruktur der Formatio reticulata. Im Nisselbild fällt auf der linken Seite besonders der zellose Bezirk im Gebiet des Pulvinar und des Nucl. lat. auf, der stellenweise bis zum Hypothalamus reicht. Im Gangl. gen. lat. sieht man nur tote Zellen. Beide Nuclei hab. lassen ihre Teile *a* und *b* erkennen, wenn auch die Zellen darin weitgehend geschädigt sind. Links schließt sich der Nucleus Tract. Meynert an, rechts fehlt er hier. Die Verhältnisse im Thalamus sind sonst dieselben, wie das vorher beschrieben wurde. Das Infundibulum wird so stark auseinandergedrängt, daß umgebende Gebiete geschädigt sind, besonders ventral. Der Hypothalamus enthält viele krankhaft veränderte Zellen, bei denen der Abräumprozeß noch teilweise im Gang ist. In den Lobi piriformes werden die Rindengebiete zwar mit Zellen versorgt, aber auch hier

sind die meisten geschädigt. Auf der rechten Seite ist das Gebiet etwas besser erhalten. In beiden Lobi piriformes finden sich Zellen vom Nucleus amygdalea.

Abb. 4 (Schnitt 62). Der Hirnstamm wird in Höhe der vorderen Vierhügel getroffen. Man sieht die Commissura posterior nur als schmales Band, sie wird aber gut mit Fasern versorgt. Aquädukt und Infundibulum sind erweitert. Der Hirnstamm ist primär nicht verletzt. Vom Großhirn steht beiderseits der Lobus piriformis, dorsal bleibt rechts ein kleiner Geweberest, der das beginnende Ammonshorn darstellt. Die Tractus Meynert sind gut ausgebildet. Bei starker Vergrößerung sieht man in den vorderen Vierhügeln viele Zellen mit wabigem Protoplasma. Die dorsalen Bezirke sind zellarm, weiter ventral bessert sich das Zellbild etwas. Auch das zentrale Höhlengrau besitzt kranke Zellen, besonders im Gebiet um den Aquädukt. Das Infundibulum zeigt narbige Ränder. Im Hypothalamus sieht man noch immer kranke Zellen. Die Corpora subthalam. enthalten viele Zellen, doch lassen sich an ihnen unscharfe Kern- und Zellgrenzen feststellen. Fast zellos erscheint der Anfang

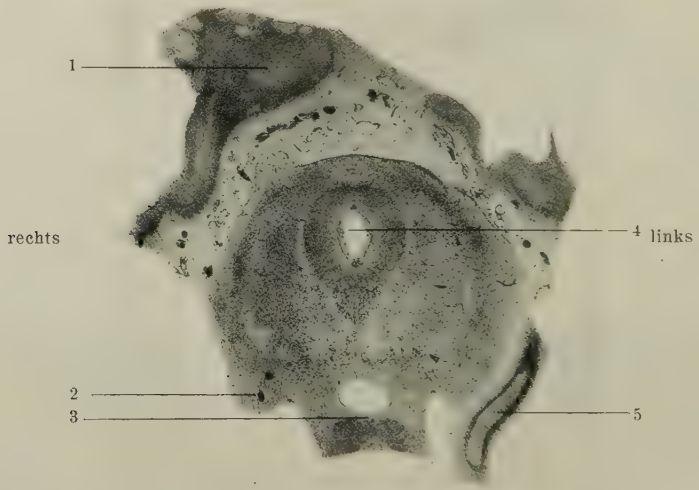


Abb. 5 (Schnitt 78). Katze *Muschi*. Vergrößerung $4^1/_2$mal. Färbung nach Nißl.
1. Gyrus fornicatus. 2. Hirnschenkelfuß. 3. Brücke. 4. Aquädukt. 5. Ammonshorn.

der Corp. mammilar. In den Corp. gen. med. sind keine normalen Nervenzellen mehr festzustellen. Man sieht lateral im zentralen Höhlengrau einige sehr große Nervenzellen, die zum größten Teil einen gesunden Eindruck machen. Die Zellen im Ammonshorn zeigen auch teilweise degenerative Veränderungen. In den Lobi piriformes finden sich noch dieselben Verhältnisse wie im Schnitt 56.

Weiter caudal wird das Ammonshorn größer. Rechts steht dorsal mehr als links. Der Operationsschnitt verläuft rechts dorsal in der Area 29, während links an dieser Stelle nur kleine Reste mit toten Zellen bleiben. Die Fimbrien fehlen zunächst auf beiden Seiten, doch weiter caudal kommen die ventralen und die dorsalen Teile miteinander in Verbindung, rechts eher als links. Lateral geht der Operationsschnitt auf beiden Seiten in der Area 28. Das Nisslbild zeigt bei starker Vergrößerung eine große Anzahl geschädigter Zellen; im Markscheidenbild sieht man die typische Faserstruktur nur angedeutet.

Abb. 5 (Schnitt 78). Der Hirnstamm wird in Höhe der beginnenden roten Kerne getroffen. An Rindengebieten sieht man hier dorsal links Reste der Area 29,

rechts einen Teil des Gyrus fornicatus mit der Area 29. Es sind nur Rindengebiete vorhanden. Links steht ventral das Ammonshorn, rechts ist es bei der Präparation verlorengegangen. (Es wurde hier ein neuer Block angeschnitten.) Die Rindengebiete enthalten dorsal fast nur kranke Zellen. Im Hirnstamm sind noch immer Zellveränderungen festzustellen, besonders in den caudalen Abschnitten des Thalamus (Nucl. ventr. und Putamen) und Hypothalamus. Auch die Corp. mammil. enthalten fast nur kranke Zellen. Die wenigen Zellen der Substantia nigra weisen auf beiden Seiten sehr starke Veränderungen auf, rechts sind sie besser erhalten als links, doch machen sie auch hier zum großen Teil einen blasigen Eindruck; zentrales Höhlengrau und Formatio reticulata enthalten neben normalen wieder viel geschädigte Zellen. Einen normalen Eindruck machen die großen Zellelemente des Oculomotoriuskernes. Die roten Kerne befinden sich in einem guten Zustand. Im Markscheidenbild sieht man noch immer die hintere Kommissur. Der Hirnschenkelfuß nimmt rechts ein kleineres Feld ein als links, beide sind fast faserlos. Die hinteren Bindearme und die laterale Schleife werden gut mit Fasern versorgt. Die Meynertsche und die Forelsche Kreuzung besitzen nur wenige Fasern.

Auf den folgenden Schnitten werden die roten Kerne größer und machen im ganzen einen normalen Eindruck. Das Gebiet der Substantia nigra nimmt zu, wobei sie links ein größeres Feld einnimmt als rechts; trotzdem finden sich auf beiden Seiten weitgehende Zellschädigungen.

Auf Schnitt 88 wird der Lobus anterior des Kleinhirns getroffen. Die hinteren Vierhügel sind noch sehr groß. Vom Großhirn stehen die medialen atrophischen Rindengebiete auf beiden Seiten vom Sulcus rhin. post. bis zum Beginn des Gyrus splenialis. Die Hinterhörner der Seitenventrikel sind stark erweitert. Das rechte ventrale Rindengebiet wird am besten mit Zellen versorgt, wenn auch hier, wie in den anderen noch bestehenden Großhirnteilen viele kranke Zellen darunter sind. Im Hirnstamm weist die Substatia nigra wieder viele krankhaft veränderte Zellen auf. Auch im Ganglion interpedunculare sieht man geschädigte Zellen. Die hinteren Vierhügel haben kranke Zellen, dorsal mehr als ventral. In den Kernen der Raphe erkennt man neben normal gefärbten einige Zellen, die sich sehr stark färben und deutliche Schrumpfungserscheinungen erkennen lassen. Im Kleinhirn sind hier sichere Veränderungen nicht nachweisbar. Im Markscheidenbild sind die Hirnschenkelfüße wieder sehr blaß. Hinteres Längsbündel und laterale Schleife werden gut mit Fasern versorgt. Es fällt ein zusammenhängendes Faserbündel auf, das von links ventral über die Raphe zieht und sich im rechten dorsalen Teil der Formatio retic. verliert; wahrscheinlich gehört es zur Meynertschen Kreuzung. Im Rindengebiet sieht man nur wenige Fasern auf der rechten Seite.

Weiter caudal wird das linke Hinterhorn des Seitenventrikels durch eine dünne Schicht nervösen Gewebes geschlossen. Die Rindengebiete sind sehr stark atrophiert und zeigen deutliche Zellschädigungen; die Rindenstruktur ist verschwommen. Das dahinterliegende Markfeld fehlt; man kann das als Druckatrophie, hervorgerufen durch den postoperativen Hydrocephalus, auffassen. Ähnliche Zellverhältnisse finden sich auf der rechten Seite; das mediale Rindengebiet ist hier weniger atrophisch. Der Seitenventrikel bleibt offen. Die Reste der Gyri ectosylvii verschwinden bald auf beiden Seiten. Im Nisslbild fallen viele kranke Zellen in den Brückenkernen auf. Je weiter man kaudal kommt, um so mehr nähert sich im Hirnstamm das Zellbild dem Normalzustand. Doch finden sich noch geschrumpfte Zellen vereinzelt in den Olivenkernen und im ventralen Kern des N. VIII (Schnitt 102). In der Medulla oblongata enthält die laterale Schleife links weniger Fasern als rechts, und in der linken Formatio reticulata fällt lateral ventral ein blasses Feld auf. Im Kleinhirn findet man sowohl in den Zellen der Kerne als auch in den Purkinje-Zellen ein gequollenes Protoplasma mit sehr undeutlichen Nisslschollen. Da die Zellanordnung einen normalen Eindruck macht und Gliareaktionen fehlen, so werden diese Veränderungen kaum Operationsfolgen sein. Sie sind

entweder unmittelbar vor dem Tode des Tieres entstanden oder stellen postmortale Erscheinungen dar. Das Markscheidenbild zeigt geschrumpfte und sehr blasse Felder der Pyramidenbahn, die sich auch im Rückenmark verfolgen lassen.

Zusammenfassung.

Neopallium. Vom Neopallium wurden wenige Rindengebiete von der Operation verschont. Vom Frontalhirn bleiben cystische und vernarbte Reste, auf der linken Seite mehr als rechts. Einzelne Rindengebiete des Gyrus proreus (Area 12) sind noch am besten erhalten, doch zeigen auch sie sekundäre Zellveränderungen. Die übrigen frontalen Rindengebiete (Gyrus genualis und Gyrus fornicatus rechts) waren nach dem sekundär veränderten Zellbild beurteilt, kaum bei Lebzeiten des Tieres noch funktionsfähig. Die Markgebiete, die zu den Rindenresten gehören, fehlen bis auf Fasern im linken Gyrus proreus. Links verschont die Operation laterale Rindengebiete bis zum Gyrus orbitalis und Gyrus sylvius anterior. Es bleibt fast die gesamte Area insularis, wovon die Area insularis granularis (Area 13) das beste Zellbild aufweist. Auf der rechten Seite sind diese Gebiete auch erhalten, aber narbig verändert und ohne Zellen und Fasern. Der Balken fehlt vollständig. Am Occipitalpol finden sich geringe Reste des rechten Gyrus fornicatus und beider Gyri spleniales, die jedoch nur wenige und kranke Zellen aufweisen. Der starke Faserausfall in den inneren Kapseln ist links etwas geringer als rechts. Perivasculäre Infiltrate lassen sich nachweisen. Vom Claustrum sieht man links Gebiete mit gut erhaltenen Zellen.

Palaeopallium. Die Bulbi olfactorii weisen degenerative Veränderungen durch Gefäßverödung auf. Der Lobus olf. bleibt links zum größten Teil erhalten, rechts zeigt er geringe primäre Verletzungen. Die Lobi piriformes haben lateral nur wenig primäre Verletzungen, sind aber im ganzen atrophisch. Die medialen Riechhirnanteile sind sehr stark geschrumpft, rechts mehr als links. Degenerative Zellveränderungen finden sich auf beiden Seiten, das allgemeine Zellbild ist links etwas besser.

Archipallium. Die Ammonshörner sind zum Teil erhalten, primäre Verletzungen haben sie im dorsalen-frontalen Teil, links mehr als rechts. Im Nisslbild sieht man die typische Zellstruktur, doch lassen sich bei manchen Zellen degenerative Veränderungen nachweisen. Das Archipallium macht im ganzen einen sehr atrophischen Eindruck.

Neostriatum. Im rechten Nucleus caudatus liegt eine Cyste, die nur wenig Nervengewebe übrig läßt. Links hat er dorsal primäre Verletzungen. Das Zellbild zeigt nur wenige große Nervenzellen, von denen einige normal sind; andere sind teils sehr blaß, teils mit Neuropnophagen umgeben. Im linken Nucl. caudat. kann man wenige Fasern der Linsenkernschlinge erkennen. Das Putamen wird auf beiden Seiten primär verletzt, rechts liegt es zum Teil mit im verödeten Bezirk. Teilweise sind die Zellen geschädigt.

Palaeostriatum. Der Globus pallidus ist auf beiden Seiten unverletzt. Zellen lassen sich nachweisen, die typische Faserstruktur wird angedeutet.

Archistriatum. Die Nuclei amygdalae werden in den caudalen Gebieten dorsal verletzt, rechts mehr als links. Sie enthalten sehr viele kranke Zellen.

Thalamus opticus. Der Thalamus hat dorsal primäre Verletzungen. Es fehlen Teile der Nuclei anteriores und des Pulvinar auf der linken Seite. Rechts wird das größte Gebiet des Thalamus von einer Cyste eingenommen, die sich erst in Höhe der Corp. gen. lat. verliert. Frontal bleibt nur ein schmaler Gewebestreifen, der die Cyste vom III. Ventrikel trennt. Am besten erhalten sind die Nuclei praethalamici. Nuclei hab. und parep. zeigen sehr viele krankhaft veränderte Zellen. Von den übrigen Gebieten finden sich die meisten Zellen in den medialen Thalamuskernen, während weiter peripher weniger zu sehen sind; dafür wird die Gliareaktion stärker. Das Corp. gen. lat. ist links besser erhalten als rechts; Zellschädigungen finden sich auf beiden Seiten. Die Corp. gen. med. bestehen fast nur aus Glia. Typische Faserstruktur zeigen die Tractus Meynert und vereinzelte Gebiete der Formatio reticulata.

Der Hypothalamus läßt schwach seine Faserstruktur erkennen; er ist sehr zellarm und viele seiner Zellen sind krankhaft verändert.

Die Substantia nigra nimmt links ein größeres Feld ein als rechts; sie enthält neben normalen viele kranke Zellen. Die Nuclei rubri wirken normal.

In den Vierhügeln und dem zentralen Höhlengrau finden sich eine Anzahl kranker Zellen. Das Kleinhirn macht einen annähernd normalen Eindruck. Die Medulla oblongata enthält vereinzelt geschrumpfte Zellen in ihren Kernen, wobei die motorischen Hirnnervenkerne die besten Zellbilder aufweisen. Die Medulla oblongata zeigt einen leichten Faserausfall auf der linken Seite.

Ventrikel. Die Seitenventrikel sind beide nach frontal offen, sehr stark erweitert und stehen mit Cysten in Verbindung. Der rechte ist anfangs dorsal durch Narbengewebe geschlossen. Der III. Ventrikel ist offen und wie das Infundibulum ebenfalls erweitert. Der Aquädukt zeigt anfangs eine mäßige Erweiterung. Der IV. Ventrikel bleibt normal.

Die Katze „Muschi“ war unmittelbar nach der Operation ein Striatumtier mit wenigen Großhirnresten am Frontal- und Occipitalpol. Die folgenden Veränderungen bewirken eine Ausschaltung fast der gesamten rechten Stammganglien, während auf der linken Seite diese Gebiete bleiben.

2. Kater H. (Hoppediez).

Vorbemerkungen: Entfernung der rechten Hemisphäre: 29. 2. 1936; Entfernung der linken Hemisphäre: 28. 5. 1936. Getötet: 27. 4. 1937.

137 Schnitte wurden vom Hirnrest des Katers Hoppediez gefärbt; 94 nach Nissl, 43 nach Weigert-Pal. Dazu noch drei Rückenmarkschnitte in Markscheidenfärbung.

Die Schnitte verlaufen anfangs sehr schräg, von dorsal-caudal nach ventral-frontal, wobei die rechte Hirnseite eher angeschnitten wird als die linke. Es erscheint auf dem ersten Schnitt nur Hirnrinde vom rechten Gyrus proreus, wobei die Areae 32, 12 und 11 zuerst getroffen werden. Wenige Schnitte weiter kommt die Area 9 dazu. Die Rindengebiete stehen anfangs getrennt voneinander, das Stratum medullare ersetzt eine Cyste.

Abb. 1 (Schnitt 7). Links wird nur der frontale Anteil des Gyrus proreus (Area 12) angeschnitten. Rechts bleiben vom

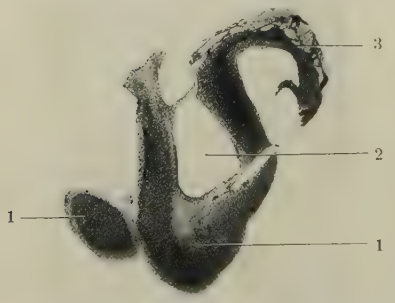


Abb. 1 (Schnitt 7). Kater *Hoppediez*. Vergrößerung $4^1/_2$mal. Färbung nach Nißl.
1. Gyrus proreus. 2. Cyste im Gebiet des Stratum medullare. 3. Area 32.

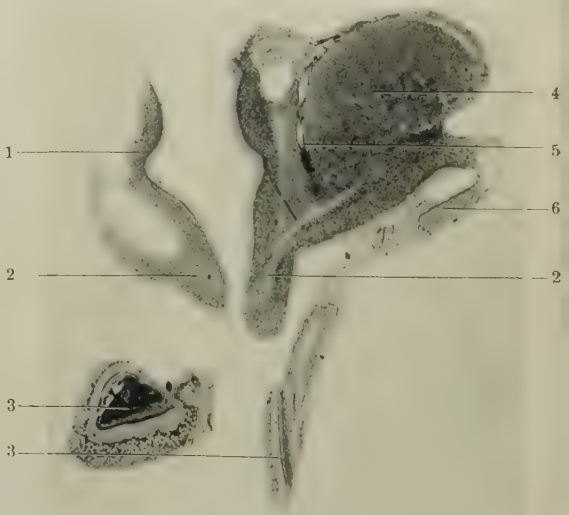


Abb. 2 (Schnitt 15). Kater *Hoppediez*. Vergrößerung $4^1/_2$mal. Färbung nach Nißl.
1. Gyrus genualis. 2. Gyrus proreus. 3. Bulbus olfactorius. 4. Nucleus caudatus. 5. Verklebter Seitenventrikel. 6. Gyrus orbitalis.

Gyrus proreus Gebiete der Areae 32, 12, 11 und 10. Der Operationsschnitt geht in der Rinde der Area 10, im Markgebiet des Gyrus proreus und in der Area 32. Die Cyste im Stratum medullare wird durch dünnes Gewebe geschlossen. Zwischen der Area 11 und 12 findet sich eine größere Narbe mit starker Schädigung der ventralen-medialen Rindensubstanz, es schließen sich kleinere Cysten an. Ventral-dorsal sieht man eine schmale Verödung im Verlauf eines verschlossenen Gefäßes. Im Narbengewebe des Gyrus proreus finden sich Zellen mit Abbauprodukten. Die Rindengebiete besitzen zum Teil ihre typische Zellstruktur. Vereinzelt sieht man kranke Zellen. Lateral von der Gefäßnarbe bis zu der größeren Narbe in der Area 11 fehlen die großen Zellen der Lamina 5. In der Area 32 werden die Schichten nach der Verletzung zu gleichmäßig dünner. Die Area 10 ist am stärksten verändert, da der Operationsschnitt hier in der Rinde ver-

läuft. Das angeschnittene Rindengebiet des linken Gyrus pror. wird gut mit Zellen versorgt.

Auf den folgenden Schnitten erscheint rechts dorsal lateral von der Cyste der Nucleus caudatus; die Cyste verliert sich bald.

Abb. 2 (Schnitt 15). Auf der linken Seite sieht man von den Gyri proreus und genualis Rindengebiete der Areae 32 und 12. Der Bulb. olf. ist getroffen, er macht einen normalen Eindruck. Im Stratum medullare findet sich auch hier eine Cyste. Die Rindengebiete sind schlechter erhalten als rechts. In den einzelnen Schichten fallen viele Zellen aus. Rechts bleibt der Nucl. caudat. bis auf geringe Verletzungen dorsal lateral erhalten. Der Operationsschnitt geht in der medialen Rinde des Gyrus orbitalis, in der inneren Kapsel, dorsal vom Nucl. caudat. Der Ventrikel wird eröffnet, ist aber zu einem dünnen Spalt verklebt. Medial geht der Schnitt durch den Gyrus genualis. Ventral sieht man den Bulb. olf. mit dem Lob. olf. ant. Im Bulb. olf. sind in den Laminae lateral weniger Zellen als medial. Auf der rechten

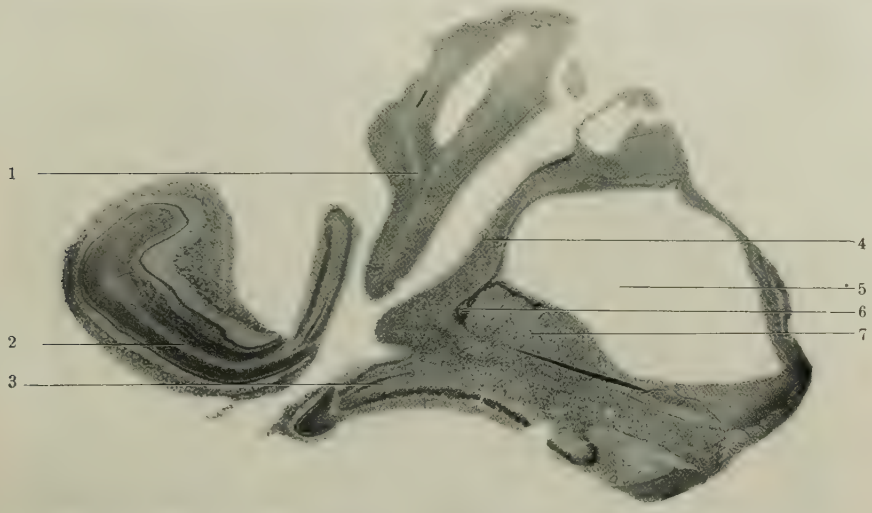


Abb. 3 (Schnitt 23). Kater *Hoppediez*. Vergrößerung $4^1/_2$mal. Färbung nach Nißl.
1. Gyrus proreus. 2. Bulbus olfactorius. 3. Lobus olfactorius anterior. 4. Gyrus genualis. 5. Cyste im Gebiet des Nucleus caudatus. 6. Verklebter Seitenventrikel. 7. Rest des Nucleus caudatus.

Seite wird der Nucl. caudat. sehr gut mit Zellen versorgt; nur in den dorsalen Rindengebieten fallen Zellen aus. In die innere Kapsel geht von dorsal eine Cyste, der Gyrus genualis enthält kleinere Cysten. Die innere Kapsel zeigt starke Gliareaktionen. In dem dünnen Ventrikelspalt sieht man Zellen mit Abbauprodukten, um ihn fehlen Nervenzellen des Nucl. caudat. Die Rindengebiete lassen auf der rechten Seite gut ihre Zellstruktur erkennen. Einzelne Zellen sind geschädigt; sie verteilen sich gleichmäßig über die Rinde, keine Schicht wird davon besonders getroffen. Lateral von der inneren Kapsel finden sich Claustrumzellen, von denen wenige geschrumpft sind. Im Markscheidenbild sieht man einige Fasern im rechten Stratum medullare des Gyrus proreus und im Gyrus genualis. Die innere Kapsel erscheint nur als schmales Band. Im Nucl. caudat. finden sich lateral Fasern der Radiatio strio-thalamica. Im rechten Lob. olf. ant. enthält der Tract. olf. Fasern. Dem Bulb. olf. fehlen rechts laterale und mediale Teile, die wahrscheinlich bei der Präparation verlorengingen, doch werden sicher leichte primäre oder sekundäre Schädigungen dabei gewesen sein, denn man sieht in der Zellstruktur einen geringen Unterschied.

In den medialen Teilen enthalten die einzelnen Laminae mehr Zellen als in den lateralen. Auf weiter caudal gelegenen Schnitten wird das noch deutlicher. Der linke Bulb. olf. macht einen normalen Eindruck.

Im rechten Nucleus caudatus erscheint auf den nächsten Schnitten ein erweichter Bezirk, der zunächst durch Glia vom normalen Gewebe getrennt wird. Weiter caudal vergrößert er sich zu einer Cyste, die nachher den Nucl. caudat. ersetzt. Das ventrale Gebiet bleibt am längsten erhalten. Im linken Rindengebiet wird die Erweichung in der Area 32 noch größer.

Abb. 3 (Schnitt 23). Der Operationsschnitt verläuft links in der Rinde der Area 11, im Nucl. caudat. durch dünnes Narbengewebe, das den Ventrikel schließt und durch den Gyrus genualis. Rechts geht er in der Area 14 des Gyrus orbitalis, durch die innere Kapsel, den dorsalen Nucl. caudat. und den Gyrus rostralis. Der Lob. olf. ant. ist rechts mit dem Großhirn vereinigt. Links beginnt der Ventrikel sich dorsal zu schließen. Die Bulbi olf. zeigen normales Zellbild. Die Lobi. olf. ant. enthalten ganz vereinzelt geschrumpfte Zellen. Auf der linken Seite sind die Rindengebiete gut mit Zellen versorgt, von denen in Nähe der Verletzungen einige krankhaft verändert sind. Vom Nucl. caudat. bleiben nur geringe Reste mit sehr blassen Zellen. Rechts zeigt die Großhirnrinde bis zum Sulcus rhin. ant. annähernd normale Zellverhältnisse. In der Area 13 verwischt sich die Rindenstruktur. Man sieht im Gyrus gen. neben vielen normalen auch kranke Zellen, besonders in dem atrophischen Gebiet der Area 32. Dorsal enthält der Gyrus gen. Zellen des Nucl. lam. termin. Der Gyrus rostralis besitzt nur sehr blasse Zellen in uncharakteristischer Anordnung. Der Nucl. caudat. wird noch weitgehender von einer Cyste eingenommen, die mit dem Seitenventrikel kommuniziert. Ventral findet sich ein erweichtes Gebiet, das bis zur inneren Kapsel reicht und viele Zellen mit Abbauprodukten enthält. Das Restgebiet vom Nucl. caudat. wird gut mit kleinen Nervenzellen versorgt. Einige große finden sich nur in der Nähe der inneren Kapsel. Der Globus pallidus enthält zum größten Teil normale Zellen. Im Markscheidenbild erscheinen die Tract. olf. normal, ebenso das Stratum medullare der Bulb. olf. und der Lob. olf. ant. Von der inneren Kapsel ist links kaum etwas zu sehen; rechts nimmt sie ein schmales Feld ein, wird aber in einigen Abschnitten gut mit Fasern versorgt, die Capsula externa läßt nur wenige Fasern erkennen. Das Stratum medullare enthält rechts mehr Zellen als links, wo es in Nähe des Ventrikels mit Cysten durchsetzt wird. Wenige zerfallene Balkenfasern der rechten Seite erscheinen.

Abb. 4 (Schnitt 30). Der Operationsschnitt verläuft auf der linken Seite ventral im Lob. olf. ant., lateral in der inneren Kapsel, dorsal im Nucl. caudat. und durch die Lamina terminalis. Auf der rechten Seite geht er im Sulc. rhin. ant. durch das Putamen und die innere Kapsel. Die große Cyste, die hier den Nucl. caudat. ersetzt, reicht bis medial in die innere Kapsel. Die Lamina terminalis bildet sich. Der linke Anteil wird besser mit Zellen versorgt als der rechte. Auf der linken Seite ist der Seitenventrikel dorsal verklebt. Die linken Riechhirnanteile enthalten medial mehr Zellen als die rechten, es finden sich auf beiden Seiten kranke Zellen. Der linke Nucl. caudat. ist primär verletzt, er läßt aber trotzdem seine typischen Zellen erkennen; einige davon machen einen kranken Eindruck. Auf der rechten Seite sieht man Cysten in der äußeren Kapsel. Glob. pall. und Putamen zeigen neben vielen normalen, kranke Zellen. Im Markscheidenbild erscheinen Fasern der medialen Riechstrahlung. Die innere Kapsel enthält links hier nur einige Fasern; rechts ist sie wieder besser ausgebildet. Die vordere Kommissur tritt auf der rechten Seite auf. Durch die Verklebung des linken Seitenventrikels wird auch die Lamina terminalis vollständig nach links gezogen. Die wenigen Balkenfasern verschwinden bald.

Schnitt 40. Der Operationsschnitt geht links im Lobus piriformis, lateral vom Tractus olf., im Claustrum, in der inneren Kapsel, im dorsalen Nucl. caudat. Dorsal liegt isoliert ein Geweberest, der zum Fornix gehört und gut mit Fasern ver-

sorgt wird. Rechts geht der Schnitt im Sulc. rhin. ant. Die Cyste reicht wieder bis in die innere Kapsel; ventral bleibt vom Nucl. praethalamicus nur ein schmales Gebiet. Medial sieht man noch Gewebe, das schon zum Nucl. parependym. gehört. Der verklebte rechte Seitenventrikel hat ventral eine kleine Lichtung. Der dritte Ventrikel wird auf der rechten Seite angeschnitten. Man sieht ein kleines Gebiet des Nucl. thal. ant. mit toten Zellen. Beide Riechhirnanteile lassen die Gangl. olf. Luysii gut erkennen; die übrigen Riechhirnanteile werden wieder links besser mit Zellen versorgt als rechts. Auch finden sich auf dieser Seite weniger krankhaft veränderte. Rechts enthält das Claustrum noch viele normale Zellen, links wird es zum größten Teil bei der Operation fortgenommen oder liegt in dem cystisch veränderten Narbengewebe. Putamen und Glob. pall. sind rechts atrophischer als links. Der mediale Nucl. caudat.-Rest enthält rechts wenige normale Zellen. Der linke bleibt gut erhalten, besitzt seine typischen Zellen, enthält aber hier schon kleine

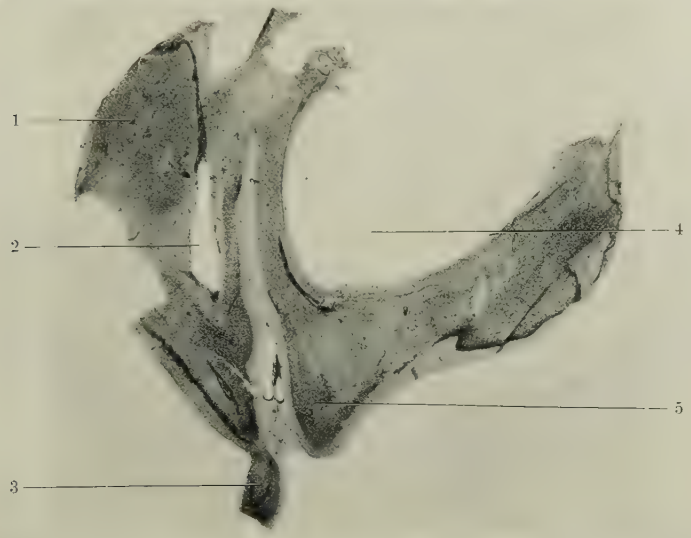


Abb. 4 (Schnitt 30). Kater *Hoppediez*. Vergrößerung $4^1/_2$mal. Färbung nach Nißl.
1. Nucleus caudatus. 2. Seitenventrikel. 3. Bulbus olfactorius. 4. Cyste, die mit dem Seitenventrikel kommuniziert. 5. Lobus olfactorius anterior.

Cysten, die auf den folgenden Schnitten noch zahlreicher werden. Der Ventrikel dieser Seite ist zugewachsen. Im Markscheidenbild sieht man die vordere Kommissur als schmales Band, rechts viel weiter kaudal als links. Rechts sieht man Fasern der absteigenden Fornixschenkel. Auf dieser Seite bleibt von der inneren Kapsel nur ein geringer Rest medial. Die typische Faserstruktur des Globus pallidus wird auf beiden Seiten angedeutet. Der linke Nucleus caudatus enthält Fasern der Radiatio strio-thalamica.

Abb. 5 (Schnitt 53). Auf diesem Schnitt ist wieder die große Cyste mit dem erweiterten rechten Seitenventrikel charakteristisch. Der Operationsschnitt geht rechts lateral im Stabkranz, ventral fehlen hier noch Rindengebiete; das liegt an der Bearbeitung des Materials, hier wurde ein neuer Block angeschnitten. Wo der Schnitt dorsal verlief, läßt sich nicht mehr feststellen, die Cyste geht bis zur inneren Kapsel, zur Formatio reticulata und reicht ventral in die Regio innominata. Auf der linken Seite verläuft der Operationsschnitt lateral vom Tractus

olfactorius, im Claustrum, Putamen, Stabkranz und dorsal im Nucleus caudatus. Der III. Ventrikel wird zum Teil durch den Fornix geschlossen. Im Verlauf des Operationsschnittes finden sich Erweichungen und Cysten. Die Cyste der rechten Seite geht bis in die medialen linken Thalamuskerne. Die rechte Regio innominata zeigt sehr viele kranke Zellen; weiter ventral bessert sich das etwas. Das Unterhorn des Seitenventrikels ist so stark erweitert, daß es hier schon erscheint. Die umgebenden Gebiete sind zellarm und atrophisch. Die rechte innere Kapsel hat nur sehr wenige Fasern. Vereinzelt sieht man große Zellen der Formatio reticulata, die einen geschädigten Eindruck machen. Dorsal erscheinen noch einige sehr veränderte Nervenzellen, die wahrscheinlich zum Rindengebiet des Gyr. sylv. ant. gehören. Die Cyste verschont vom rechten Thalamus hier nur Gebiete der Nuclei parependym. und thal. ant., die nur weitgehend veränderte Zellen enthalten. Im rechten Nucl. thal. ant. finden sich Zellen mit Abbauprodukten. Auf der linken Seite besitzen die Riechhirnanteile viele normale Zellen, die Gangl. olf. Luysii sind gut ausgebildet. Claustrum und äußere Kapsel dieser Seite enthalten Cysten; vom

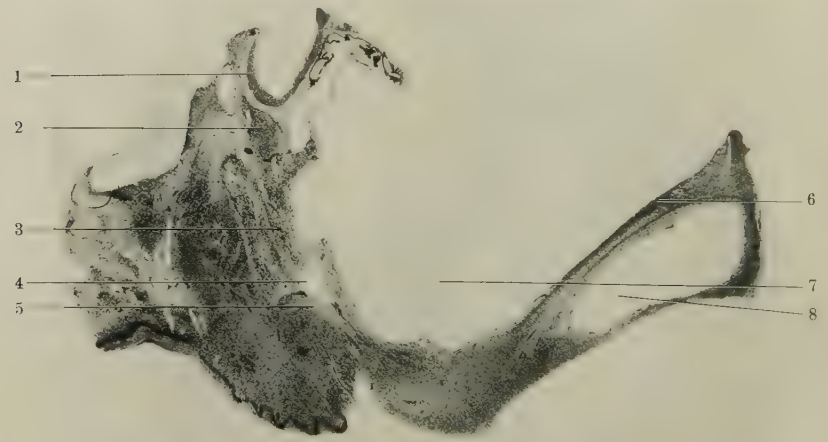


Abb. 5 (Schnitt 53). Kater *Hoppediez*. Vergrößerung $4^1/_2$mal. Färbung nach Nißl.
1. Fornix. 2. Nucleus anterior des Thalamus. 3. Mediale Thalamuskerne. 4. III. Ventrikel. 5. Vordere Commissur. 6. Rest der inneren Kapsel. 7. Cyste. 8. Cyste, die vom Unterhorn des Seitenventrikels ausgeht.

Claustrum finden sich einige Zellinseln mit zum größten Teil krankhaft veränderten Zellen. Der Globus pallidus ist besser erhalten als das Putamen. Dorsal bleibt nur noch ein kleines Gebiet des Nucleus caudatus erhalten, der hier wenige kranke Zellen enthält. Auf der rechten Seite sieht man neben vorderer Kommissur und absteigendem Fornixschenkel Fasern der Striae medullar. medial. des Thalamus. Die Tractus Meynert beginnen, rechts erscheint nur ein schwacher Schatten von ihm ohne Fasern. Die Formatio reticulata ist atrophisch und enthält nur wenige Fasern und Zellen. Die linken Thalamuskerne sind geschrumpft. Man sieht Zellen im Felde der Nuclei thal. ant., medialis *a* und *b*, centr. *c*, ventr. und parep. In allen Thalasmuskernen lassen sich kranke Zellen nachweisen, besonders im Nucl. thal. ant., in dessen medialem Gebiet erweichtes Gewebe liegt.

Abb. 6 (Schnitt 71). Dieser Schnitt wird in Höhe des Chiasma und der Tractus optici getroffen. Beide Unterhörner der Seitenventrikel sind offen und sehr stark erweitert. Der Operationsschnitt geht rechts im Sulc. rhin. ant. und im Corp. gen.

lat. Außer dem Hypothalamus bleibt rechts der Tractus opticus und medial davon ein schmaler Gewebsstreifen. Auf der linken Seite steht der Lobus piriformis. Die Operation verlief durch den Tractus opticus und dorso-laterale Thalamusgebiete. Dorsal sieht man Ammonshorn mit Fimbrie. Beide Lobi piriform. sind am dorsalen Rand durch die starke Erweiterung der Seitenventrikel geschädigt. Die Rindenstruktur bleibt erhalten, obwohl viele Zellen ausfallen oder krankhaft verändert sind. Auch die Nuclei amygdalae enthalten viele kranke Zellen. Das Ammonshorn verhält sich ähnlich; man findet auch hier einigermaßen erhaltene Zellstruktur und teilweise kranke Zellen, wobei die Fascia dentata ein besseres Zellbild hat als die Rinde. Dorsal liegt im Markgebiet des Ammonshornes eine kleine Cyste, medial von ihm bleibt etwas Gewebe vom Plexus chorioideus erhalten. Der Hypothylamus enthält auf beiden Seiten sehr viele krankhaft veränderte Zellen. Das Infundibulum

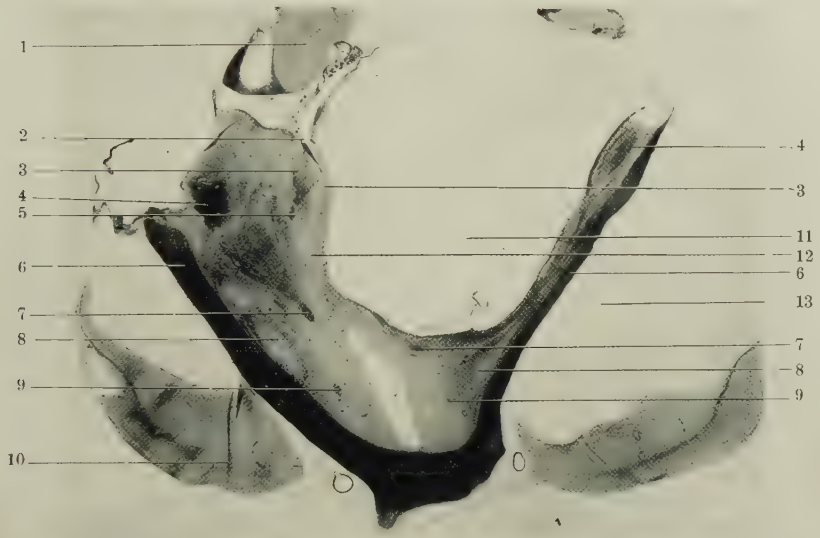


Abb. 6 (Schnitt 71). Kater *Hoppediez*. Vergrößerung $4^1/_2$mal. Markscheidenfärbung.
1. Ammonshorn. 2. III. Ventrikel. 3. Nucleus habenulae. 4. Ganglion geniculatum laterale. 5. Tractus Meynert. 6. Tractus opticus. 7. Viq d'Azyrsches Bündel. 8. Hirnschenkelfuß. 9. Absteigender Fornix. 10. Lobus piriformis. 11. Cyste im Thalamus. 12. Nucleus reuniens. 13. Seitenventrikel.

ist erweitert, ventral erscheinen in den anliegenden Kernen Zellen mit Abbau. produkten. Vom rechten Thalamus bleiben medial Gebiete der Nuclei parependym- und habenul. und des Nucleus centr. *c*. Die Cyste geht wieder bis in den Hypothalamus und läßt lateral nur ein schmales Feld der Formatio reticulata und des Corp. gen. lat., das hier sicher keine funktionsfähigen Zellen mehr enthält. Die Form. retic. besitzt dorsal einige normale Zellen. Hier enthalten im linken Thalamus Zellen die Nuclei medial. *a*, *b* und *c*, central. *a*, haben., parep. und die Nucl. Tractus Meynert. Unter diesen Zellen finden sich nur wenige vollkommen normale, die meisten im Nucl. Tract. Meynert. Soweit die anderen Thalamuskerne noch Nervenzellen besitzen, sind sie sicher krankhaft verändert. Sehr starke Gliareaktion weisen besonders Pulvinar und Nucleus ventralis auf; beide enthalten außerdem kleine Cysten und perivaskuläre Infiltrate. Der Tractus opticus enthält viele Fasern, der linke wird dorsal faserarm, weil er an verletztes Gebiet kommt. Der Hypothalamus

hat wenig Fasern. Links kann man den Tractus Meynert und Fasern der Viq d'Azyrschen Bündel erkennen, auf beiden Seiten erscheinen die absteigenden Fornixschenkel. Beide Hirnschenkelfüße nehmen nur ein kleines Feld ein und sind sehr faserarm, wobei der rechte in einem noch schlechteren Zustand ist als der linke.

Links erscheint auf den folgenden Schnitten das Corp. gen. lat., frontal wird es dorsal verletzt; die typische Zellstruktur läßt sich auch kaudal nicht erkennen. Auf der rechten Seite bleibt nur ein Rest des Gangl. gen. lat. Im Markscheidenbild erkennt man links Fasern der Radiatio optica. Die große Cyste der rechten Seite wird nach kaudal zu kleiner, sie verschwindet in Höhe der Vierhügel. Der Hypothalamus und die Gebiete um das erweiterte Infundibulum sind sehr atrophisch. Viq d'Azyrsches Bündel und absteigender Fornix sind links in einem besseren Zustand als rechts. Die Corp. subthal. enthalten Zellen, unter denen sich viele kranke nachweisen lassen, die Schrumpfungserscheinungen zeigen.

Schnitt 76. Der Hirnstamm wird in Höhe der beginnenden Corp. gen. med. getroffen. Links sieht man isoliert den kaudalen Anteil des Corp. gen. lat. Der Operationsschnitt verläuft auf beiden Seiten lateral im Lobus piriformis und dorsal im Ammonshorn, von dem er links mehr verschont als rechts. Die große Cyste der rechten Seite reicht hier noch bis in den Nucleus ventralis. Beide Seitenventrikel sind offen und sehr stark erweitert. Der rechte Lobus piriformis wirkt schon makroskopisch sehr atrophisch. Auf beiden Seiten enthält er noch Zellen der Nuclei amygdalae. Im ganzen zeigen die Lobi piriform. ein schlechtes Zellbild, der linke enthält außerdem kleine Cysten. Um das Infundibulum werden nur die Nucl. infundibulares mediales gut mit Zellen versorgt, unter denen aber auch krankhaft veränderte nachweisbar sind. Der Thalamus bietet etwa noch dasselbe Bild wie auf Schnitt 71. Ein Gebiet, das wahrscheinlich zum rechten Gangl. gen. lat. gehört, besitzt fast nur kranke Zellen. Im linken Corp. gen. med. läßt sich die typische Zellstruktur nicht erkennen, hier ist das Zellbild sehr schlecht. Die Formatio reticulata enthält auf beiden Seiten einige normale Zellen. Die Gebiete des Ammonshornes enthalten Zellen in einem ganz guten Zustande, besonders dort, wo die Verletzungen weiter entfernt liegen. Die Struktur des Hypothalamus und der Formatio reticulata wird deutlich. In den Nuclei der Hirnschenkelfüße finden sich auf beiden Seiten viele normale Zellen, nur wenige geschrumpfte lassen sich nachweisen. Im linken Nucl. hypothal. *b* sieht man einen zellarmen Bezirk, der auf kaudal folgenden Schnitten zu einer Erweichung führt.

Auf den folgenden Schnitten erscheinen die Corpora mammillaria. Sie enthalten neben krankhaft veränderten Zellen, die in den medialen Feldern zahlreicher sind als in den lateralen, auch noch normale. Im linken Hirnschenkelfuß sieht man lateral ein Gebiet mit kleinen perivasculären Infiltraten. Der Nucleus ruber macht auf beiden Seiten einen normalen Eindruck. Der Hirnstamm ist auf der rechten Seite noch verletzt oder vernarbt. Man sieht Erweichungen und Cysten dorsallateral im vorderen Vierhügel, im Pulvinar und im Corp. gen. med., in dem man außerdem auf beiden Seiten starke Gliavermehrung feststellen kann.

Das Ammonshorn wird auf der linken Seite von der Operation weitgehend verschont, dorsal ist es primär verletzt und enthält kleine Cysten und Erweichungen. Lateral wird der Alveus stellenweise leicht verletzt. Auf beiden Seiten finden sich kleine Erweichungen dort, wo das Ammonshorn in die Area 29 übergeht. Auf der rechten Seite bleibt vom Ammonshorn nur wenig Gewebe, es ist medial und dorsal verletzt und nimmt erst weiter kaudal ein größeres Feld ein. Anfangs lassen sich Cysten feststellen, lateral-dorsal findet sich ein kleiner Abszeß. Der Alveus dieser Seite wird ebenfalls verletzt und der ventrale Teil zeigt auch Erweichungen. Dorsal sieht man kleine Erweichungsherde zwischen Rinde und Fascia dentata (Schnitt 91), einen größeren lateral im dorsalen Gebiet. Auf beiden Seiten enthält das Ammonshorn, soweit es nicht verletzt wird, die typische Zellstruktur. Die Zellen sind zum Teil noch in einem guten Zustand. Die Lobi piriform. bleiben fast vollständig er-

halten. Der linke enthält stellenweise im Markgebiet kleine Cysten und der rechte ist sehr atrophisch. Beide besitzen Zellen, am besten wird die Lamina 2 versorgt. Weiter kaudal schließen sich links Gebiete der Gyri splen. post. und lat. post. an, die auch noch viele Zellen enthalten. In der Area 29 und an den verletzten Stellen finden sich kleine Erweichungsherde, das Zellbild verschlechtert sich dabei. Auf der rechten Seite bleiben vom Occipitalhirn mehr Rindenteile erhalten, doch sind sie äußerst atrophisch. Das Hinterhorn des Seitenventrikels reicht bis weit in das Stratum medullare und wird nur von sehr dünnen Rindengebieten der Gyri splen. post., lat. post. und suprasylv. post. umschlossen. Dabei sind die medialen Rindengebiete viel besser erhalten als die lateralen. In allen Rindenteilen lassen sich Zellen nachweisen, von denen viele krankhafte Veränderungen zeigen. Die Markgebiete der Rinde fehlen vollständig.

Schnitt 85. Dieser Schnitt liegt in der Höhe, wo das linke Ammonshorn und der ventrale Teil des rechten gut erhalten sind. Man sieht beide Lobi piriformes, von denen der rechte noch atrophischer ist als der linke. Im Ammonshorn findet man die vorher beschriebenen Verhältnisse, es wird von den hier erhaltenen Rindengebieten am besten mit Zellen versorgt und enthält die wenigsten sekundär veränderten. Dieser Schnitt ist links weiter kaudal getroffen als rechts. Auf der rechten Seite ist das Gebiet im lateralen Vierhügel, in der Radiatio optica, im Pulvinar und im dorsalen Corp. gen. med. sehr stark cystisch verändert. Dorsal sieht man in dem cystischen Gewebe ein Gebiet, das zum Corp. gen. lat. gehören könnte, die Zellanordnung ist uncharakteristisch und die Zellen sind weitgehend verändert. Beide vorderen Vierhügel enthalten neben normalen viele kranke Zellen. Auch im zentralen Höhlengrau sind kranke Zellen nachweisbar. In den Corp. gen. med. sieht man starke Gliavermehrung, vereinzelt Neuronophagien und nur ganz wenige normale Nervenzellen. Die Nuclei rubri enthalten auch hier ihre typischen Zellen. Im linken Hirnschenkelfuß liegt lateral ein kleines entzündliches Gebiet. Auf diesem Schnitt enthält die Substantia nigra links mehr Zellen als rechts, wo sich mehr geschrumpfte nachweisen lassen. Auf weiter kaudal gelegenen Schnitten nimmt sie auch rechts ein ziemlich großes Feld ein und enthält kaudal mehr Zellen als links (Schnitt 96). Die kaudalen Teile des Thalamus erkennt man an den vielen kranken Zellen, am besten sind noch die der Formatio reticulata erhalten. Im Markscheidenbild erscheinen in der hinteren Kommissur viele Fasern.

Schnitt 102. Man sieht beide hinteren Vierhügel mit den letzten Fasern der hinteren Kommissur. Vom Großhirn bleiben hier mediale und ventrale Gebiete des Gyrus lat. post. und ein schmales Rindengebiet des Gyrus splen. post. Rechts verläuft der Operationsschnitt in der Rinde des Gyrus suprasylvius post., von den anderen Rindenteilen stehen nur sehr dünne atrophische Gebiete. Das Markgebiet fehlt bis auf zwei dünne narbige Stränge, die quer durch das Hinterhorn des Seitenventrikels ziehen. Außer den dorsal gelegenen Gebieten enthalten alle Rindengebiete noch Nervenzellen, am besten wird der linke Gyrus lat. post. mit Zellen versorgt. Man findet neben geschrumpften sehr viele Zellen mit wabigem Protoplasma und unscharfen Zellgrenzen. Beide Trigemini machen einen normalen Eindruck. Der Hirnstamm hat hier keine primären Verletzungen mehr. Am ventralen Rand zeigt die Comm. post. kleine Erweichungen. Beide hinteren Vierhügel enthalten neben normalen Zellen sehr blaß gefärbte und krankhaft veränderte; ein ähnliches Bild bietet die Formatio reticulata. In den Brückenkernen finden sich hier viele normale Zellen, einige geschrumpfte lassen sich nachweisen. Die Brückenarme besitzen viele Fasern, während die Hirnschenkelfüße natürlich wieder sehr faserarm sind. Medial ventral von den Brückenarmen sieht man rechts mehr Fasern als links. In den Gebieten der Forelschen und Meynertschen Kreuzung lassen sich Fasern erkennen. Die Struktur der Formatio reticulata ist sehr gut erhalten.

Weiter kaudal sieht man im Hirnstamm noch immer kein normales Zellbild. Am stärksten verändert ist die Substantia grisea centralis, doch findet man ge-

schrumpfte Zellen auch vereinzelt im Nucleus ventralis vom N. VIII, im Bechterewschen und Deitersschen Kern und in den Olivenkernen. Im Rückenmark läßt sich außer Faserausfall der Pyramidenbahn nichts Krankhaftes erkennen.

Die Kleinhirnrinde gibt ein normales Bild, während in den Nuclei dentati vereinzelt geschrumpfte Zellen sicher nachzuweisen sind.

Zusammenfassung.

Neopallium. Die Operation läßt Rindengebiete auf beiden Seiten frontal und occipital stehen. Es bleibt nur Rinde erhalten, das dazugehörige Markgebiet wird durch Cysten ersetzt. Rechts sieht man frontal die Gyri pror. und genual. (Teile der Areae 32, 10, 11, 12). Auf der linken Seite bleiben von denselben Gyri nur Reste der Areae 32 und 12, sie sind in einem schlechteren Zustand als rechts. Bei den frontalen Rindenteilen bleibt die Zellstruktur ganz gut erhalten, rechts besser als links. Krankhaft veränderte Zellen lassen sich in sämtlichen Rindengebieten nachweisen, die natürlich in Nähe der Verletzungen zunehmen. Vom Occipitalhirn stehen rechts sehr atrophische Gebiete der Gyri splen. post., lat. post. und suprasylv. post. Links sieht man die medialen Anteile der Gyri splen. post. und lat. post.; sie sind besser erhalten als die entsprechenden Gebiete der rechten Seite. In der inneren Kapsel lassen sich die sehr starken Faserausfälle nachweisen, die man bis in das Rückenmark verfolgen kann. Das Claustrum wird auf beiden Seiten verletzt, rechts bleibt mehr erhalten als links, einige normale Zellen sind nachweisbar.

Paläopallium. Der linke Bulbus olfactorius macht einen annähernd normalen Eindruck, der rechte hat wahrscheinlich lateral eine geringfügige Verletzung, die Laminae sind medial besser ausgebildet als lateral. In der Lamina IV lassen sich vereinzelt kranke Zellen nachweisen. Beide Lob. olf. ant. lassen ihre Zellstruktur gut erkennen, der linke ist in einem besseren Zustand als der rechte, der mehr krankhaft veränderte Zellen enthält. Die Lob. olf. post. sind sehr atrophisch und zeigen ein schlechtes Zellbild.

Archipallium. Das linke Ammonshorn ist nur dorsal primär verletzt. Rechts fehlt der dorsale frontale Teil und seitlich sind geringe Verletzungen. Das rechte Ammonshorn ist viel atrophischer als das linke. Die Zellstruktur bleibt erhalten, im Rindengebiet finden sich einige kranke Zellen, die Fascia dentata hat ein besseres Zellbild.

Neostriatum. Vom linken Nucleus caudatus bleibt der größte Teil erhalten, er hat nur frontal dorsal und lateral geringe Verletzungen. Das Zellbild zeigt neben normalen Zellen einige krankhaft veränderte, besonders in den Randgebieten. Der rechte Nucleus caudatus wird zum größten Teil von einer Cyste ersetzt; nur frontal bleibt dorsal und ventral etwas Gewebe. Das Putamen wird rechts nur wenig primär verletzt, ist aber im ganzen atrophisch. Typische Zellen sind nachweisbar. Links nimmt es die Operation zum größten Teil fort oder es liegt in verödetem Gebiet, nur wenige Zellen lassen sich nachweisen.

Palaeostriatum. Der Globus pallidus ist rechts atrophisch, seine Faserstruktur wird angedeutet, typische Zellen sind nachweisbar. Links liegt er mit seinem dorsalen Teil in verödetem Gebiet, die erhaltenen Zellen sind zum Teil krank.

Archistriatum. Die Nuclei amygdalae sind an ihren dorsalen Rändern geschädigt, neben normalen Zellen lassen sich krankhaft veränderte feststellen.

Thalamus opticus. Auf der rechten Seite liegt im Thalamusgebiet eine Cyste, die ihn zum größten Teil ersetzt. Es bleiben nur schmale atrophische Randgebiete von den Nuclei parep. habenul., ant., centralis *c*, ein Rest der Gangl. gen. med. und lat.; außerdem enthält die Formatio reticulata einige Zellen. Links bleibt mehr erhalten, aber das ganze Thalamusgebiet ist geschrumpft. Nervenzellen finden sich in den Nuclei parependym., habenul. Thalami anteriores, Tractus Meynert, lateral. und centr. *a* und *c*, medial. *a*, *c* und *b*, ventralis. Im Pulvinar, in den Gangl. gen. lat. und med. und im Nucleus ventralis erscheinen neben krankhaft veränderten Nervenzellen zahlreiche kleine Cysten und perivasculäre Infiltrate; der Nucleus ventralis zeigt außerdem Gliavermehrung. In sämtlichen Thalamuskernen lassen sich krankhaft veränderte Zellen nachweisen, auf der rechten Seite sind normale Zellen kaum nachweisbar.

Der Hypothalamus ist auf beiden Seiten atrophisch, rechts noch mehr als links, seine Zellen lassen zum Teil krankhafte Veränderungen erkennen. Die Substantia nigra enthält auf beiden Seiten etwa gleich viel Zellen, unter denen sich vereinzelt geschrumpfte nachweisen lassen. Die roten Kerne sind normal. Der rechte vordere Vierhügel wird frontal und seitlich mit von der vernarbenden Cyste betroffen; er enthält wie das gesamte Vierhügelgebiet viele krankhaft veränderte Zellen. In der Medulla oblongata lassen sich vereinzelt geschrumpfte Zellen nachweisen. Die Kleinhirnrinde ist normal, der Nucleus dentatus enthält neben normalen wenige geschrumpfte Zellen.

Ventrikel. Das Ventrikelsystem zeigt die Neigung, zu verkleben und zu verwachsen. Die Seitenventrikel stehen mit den Cysten in Verbindung, wo sie nicht verklebt sind. Am Occipitalpol sind die Ventrikel sehr stark erweitert. Der III. Ventrikel ist kaum erweitert und durch den Fornix abgeschlossen. Aquädukt und IV. Ventrikel sind annähernd normal.

Der Kater Hoppediez entsprach nach der Operation einem Striatumtier, das einige zusammenhängende frontale und occipitale Rindengebiete besaß. Motorische Rindenfelder fehlten. Der sehr starke Hydrocephalus bewirkte eine hochgradige Atrophie der occipitalen Rindengebiete. Rechtes Striatum und rechter Thalamus werden später fast vollständig von einer Cyste eingenommen. Bei der Sektion bleibt das Tier für die linke Hirnseite ein Striatumtier, während die rechte Seite fast einem Mittelhirntier entspricht.

3. Kater K. (Kuno).

Vorbemerkungen. Entfernung der rechten Hemisphäre: 17. 6. 1936; Entfernung der linken Hemisphäre: 1. 10. 1936. Getötet: 19. 5. 1937.

Vom Gehirn des Katers Kuno wurden 85 Schnitte nach Nissl gefärbt, nach Weigert-Pal 44 Gehirnschnitte und 3 Rückenmarkschnitte.

Zuerst werden die Bulbi olfactorii angeschnitten, sie haben zwar keine primären Verletzungen, auch bleibt die Struktur erhalten, aber es lassen sich Zellen mit wabigem und unscharfem Protoplasma nachweisen, besonders in der Lamina IV (Schnitt 6). Im Innern des rechten Bulbus olfactorius finden sich Zellen mit Abbauprodukten. Der linke ist atrophisch und färbt sich schwächer als der rechte, medial fehlen ihm Fasern. Vom Großhirn erscheint zuerst die Area 12 des Gyrus proreus, sie ist in einem sehr guten Zustand.

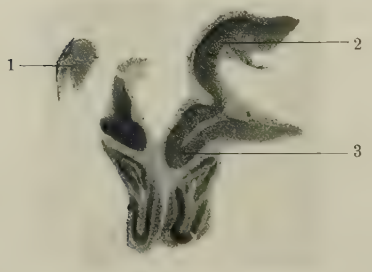


Abb. 1 (Schnitt 10). Kater *Kuno*. Vergrößerung 6 mal. Färbung nach Nißl. 1. Rest von Gyrus orbitalis. 2. Gyrus genualis. 3. Gyrus proreus.

Abb. 1 (Schnitt 10). Rechts geht der Operationsschnitt durch die Area 11, im Stratum medullare und lateral in der Area 6. Es bleiben vom Gyrus proreus die Areae 12 und mediales Gebiet der Area 11 erhalten, vom Gyrus genualis die Areae 32 und 10. Links verläuft der Schnitt lateraldorsal in der Area 12, im Stratum medullare und in der Area 32. Lateral liegt isoliert ein Geweberest, der zum Gyrus orbitalis gehört; er hat weitgehend veränderte Zellen. Die Areae 12 und 32 bleiben erhalten. Nur die Gyri prorei haben Markgebiete. Bulbi olfactorii und Lobi olf. ant. sind unverletzt. Hier sieht man deutlich, daß die Laminae im rechten Bulbus olfact. breiter sind als im linken, in dem die Zellen der 5. und 6. Schicht schlechter erhalten sind. In beiden Ventrikeln der Bulbi sieht man dorsal einige Zellen mit Abbauprodukten. Die Lobi olfact. ant. enthalten an den dorsalen Polen zellose Bezirke; links findet man auch hier einige Zellen mit Abbauprodukten. Primäre Verletzungen haben sie nicht. In den Rindengebieten läßt sich die Zellstruktur gut nachweisen, einige krankhaft veränderte finden sich in allen Schichten, in der Nähe der Verletzungen nehmen sie zu. Der linke Gyrus proreus ist etwas atrophischer als der rechte. Die Bulbi olfactorii werden auch weiter kaudal nicht primär verletzt. Die Seitenventrikel sind nach frontal und dorsal offen und sehr stark erweitert.

Abb. 2 (Schnitt 15). Der Operationsschnitt verläuft links lateral vom Lob. olf. ant. im Markgebiet der Rinde, in der inneren Kapsel und im lateralen Nucleus caudatus. Dorsal geht er durch die vollständig verödete Rinde des Gyrus fornicatus. Auf der rechten Seite geht der Schnitt lateral wie auf der linken Seite. Dorsal verläuft er im Gyrus splenialis. Die Seitenventrikel sind so stark erweitert, daß sie auch Markgebiete der Rinde einnehmen. Der linke Lob. olf. ant. ist mit dem Großhirn vereinigt und sein dorsaler Teil liegt im verletzten Gebiet. Der rechte bleibt unverletzt. Links sieht man die Areae 12 und 32 des Gyrus genualis, dorsal davon liegt ein schmaler Streifen der Area 24 ohne Zellen. Auf der rechten Seite sind diese Gebiete viel besser erhalten und weniger atrophisch. Hier bleiben dorsal neben der Area 24 noch Teile der Area 6 des Gyrus fornicatus und die ventrale Area 5 des Gyrus splenialis. Die medialen Reste der Nuclei caudati sind auf beiden Seiten mit

dem Hirnrest ventral durch Narbengewebe verbunden. Lateral davon erscheinen Zellen mit Abbauprodukten. Beide Nuclei caudati enthalten weniger Zellen als im Normalzustand. Sie sind sehr blaß und in den großen Zellen lassen sich im Protoplasma große Vakuolen nachweisen. Im Gebiet des Balkens finden sich Gliazellen. Das Markscheidenbild zeigt Fasern in den Riechhirnanteilen, auch bei dieser Färbung machen die Rindengebiete der rechten Seite einen viel besseren Eindruck als links. Die Nuclei caudati enthalten hier keine Fasern der Radiatio strio-thalamica.

Auf den folgenden Schnitten geht die Erweiterung der Seitenventrikel so weit, daß sich der linke mit dem Ventrikel des Bulbus olfact. vereinigt, an dieser Stelle finden sich sehr viele Gliazellen. Die Lamina terminalis bildet sich.

Schnitt 24. Links geht der Operationsschnitt etwas ventral vom Sulcus praesylvius und durch den ventralen Teil des Nucleus caudatus, dessen Rest aus

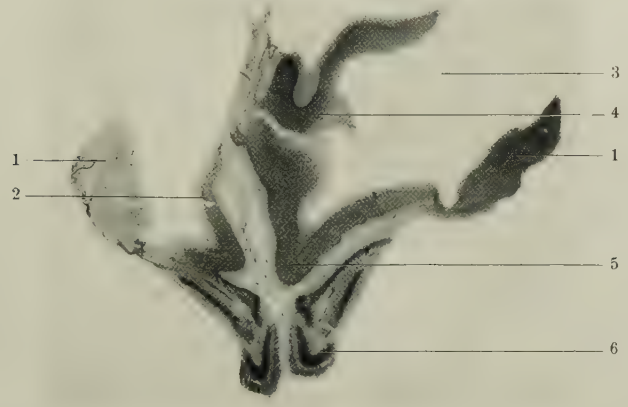


Abb. 2 (Schnitt 15). Kater *Kuno*. Vergrößerung $4^1/_2$mal. Färbung nach Nißl.
1. Nucleus caudatus. 2. Gyrus genualis. 3. Seitenventrikel. 4. Gyrus fornicatus und mediales Gebiet des Gyrus splenialis. 5. Gyrus proreus. 6. Bulbus olfactorius.

cystischem Narbengewebe besteht. Rechts beginnt er auch im Lob. olf. ant. und verläuft in der inneren Kapsel und im dorsalen Nucleus caudatus. Die Lamina terminalis bleibt vollständig erhalten. Auf der rechten Seite liegt losgelöst ein Rindenrest, der zu den Gyri rostralis und fornicatus gehört. Im Markscheidenbild enthalten die Riechhirngebiete mit den Tractus olfactorii viele Fasern. Die Lamina terminalis besitzt ventral mehr Fasern als dorsal. Links fehlt die innere Kapsel vollständig, rechts sieht man in ihr vereinzelt einige Faserbündel und wenige Fasern der Radiatio strio-thalamica. Im Nisslbild erscheinen wieder die ventralen Pole des Riechhirns sehr zellarm. Im zentralen Gebiet des Riechhirns finden sich viele Zellen mit blasigen Kernen und unscharfen Zellgrenzen. Die Rindenstruktur der Area 12 ist rechts besser erhalten als links. In der Lamina terminalis finden sich etwa von der Mitte ab nach dorsal nur blasse Zellschatten. Die Rindenreste der rechten Gyri rostral. und fornicatus lassen die Rindenstruktur erkennen. Die äußeren Schichten sind besser erhalten als die inneren, die den Verletzungen am nächsten liegen. Links bleibt vom Striatum am besten der Colliculus striati erhalten. Die Reste des Globus pallidus und des Putamen enthalten nur wenige Zellen. Das kleine ventrale Gebiet, das vom Nucleus caudatus noch bleibt, ist vollständig verödet und enthält keine Zellen mehr. Rechts bleibt der größte Teil des Nucleus caudatus erhalten; er wird ganz gut mit Zellen versorgt, unter denen viele krankhaft

veränderte sind. Im Nucleus caudatus liegen die großen Nervenzellen nur vereinzelt. Einige Zellen des Globus pallidus sind zu sehen. Beide Seitenventrikel sind sehr stark erweitert; das anliegende Gewebe zeigt an manchen Stellen kleine entzündliche Infiltrate, eine größere Infiltration liegt medial ventral auf der rechten Seite.

Auf den folgenden Schnitten wird zunächst nur die linke Seite getroffen, die auch später immer weiter kaudal getroffen erscheint. Die linken Rindengebiete des Riechhirns enthalten wenig Zellen. In der inneren Kapsel und im Rest des Nucleus caudatus liegen Cysten. Der Seitenventrikel wird von vernarbtem Gewebe des Stabkranzes nach dorsal geschlossen. Der Nucleus caudatus ist weitgehend verödet, Fasern der Radiatio strio-thalamica fehlen vollständig. Die innere Kapsel zeigt starke Gliavermehrung, in ihr läßt sich durch mehrere Schnitte ein infiltriertes Gefäß verfolgen. Vom Globus pallidus sieht man nur einige Zellen des ventralen Teiles. Putamen und Claustrum werden weitgehend durch Cysten ersetzt, nur ganz vereinzelt finden sich Zellen, die aber alle krankhaft verändert sind. Die Nuclei praethalamici sind sehr zellreich. Der Fornix enthält noch Fasern, an ihm hängt Plexusgewebe. Sobald die rechte Seite angeschnitten wird, sieht man, daß ihre Rindenteile viel besser erhalten sind. Die Rindenstruktur wird deutlicher und die Zellen färben sich besser an. Die Rinde bleibt bis in den Gyrus orbitalis erhalten, während links dieses Feld verödet und cystisch ist. Der III. Ventrikel wird dorsal vom Fornix geschlossen, er ist erweitert.

Schnitt 40. Auf der linken Seite geht der Operationsschnitt im Sulcus rhinicus posterior, läßt den Seitenventrikel offen und geht weiter im medialen Teil des Stabkranzes. Dorsal bildet wieder der Fornix den Abschluß. Rechts geht er im ventralen Teil des Gyrus sylvius anterior, durch Claustrum, Putamen, innere Kapsel und im dorsalen und lateralen Gebiet des Nucleus caudatus. Der erweiterte Seitenventrikel bleibt offen. Der III. Ventrikel steht mit dem Seitenventrikel in Verbindung, weil die absteigenden Fornixschenkel sehr weit auseinandergedrängt sind. Der linke Hirnrest wird sehr schlecht mit Zellen versorgt. Der Lobus piriformis ist atrophisch, an seinem lateralen Rindengebiet finden sich Zellen mit Abbauprodukten. Die Rindenstruktur ist nicht mehr nachweisbar und im Nucleus amygdalae erscheinen hier nur vereinzelt einige Zellen. Vom Thalamus bleiben Gebiete der Nuclei parependymales, lateralis, anterior, ventralis, medialis und centralis. In den Nucleus ventralis reicht von seitlich eine Cyste. Gebiete der Nuclei mediales, ventralis und des Pulvinar zeigen neben starker Gliose perivasculäre Infiltrate. Diese kleinen entzündlichen Herde nehmen auf den folgenden Schnitten zu. Das Corp. gen. lat. beginnt, es enthält sehr wenig Zellen. Man kann fast an allen Thalamuskernen krankhafte Veränderungen feststellen, die meisten Zellen finden sich noch in den medialen und zentralen Gebieten. Die rechte Seite zeigt ein weitaus besseres Zellbild, als die entsprechenden Gebiete der linken Seite. Die Rindenstruktur ist ganz gut erhalten und die Gangl. olfact. Luysii sind besser ausgebildet als links. Krankhaft veränderte Zellen lassen sich natürlich auf beiden Seiten nachweisen. Nucleus caudatus, Globus pallidus und ein Teil des Putamens enthalten ihre typischen Zellen. Der ventrale Teil des Claustrums bleibt erhalten. In all diesen Gebieten finden sich neben normalen krankhaft veränderte Zellen. Das Markscheidenbild zeigt links den frontalen Teil des Tractus opticus. Im Thalamus läßt sich medial ein Faserstrang feststellen, auch sieht man auf dieser Seite Fasern des absteigenden Fornixschenkels. Der horizontale Fornixanteil mit den Fimbrien ist sehr faserarm. Auf der rechten Seite sieht man noch die vordere Kommissur. Die innere Kapsel wirkt schmal, sie enthält nur wenige Faserbündel. Einige Fasern der Radiatio strio-thalamica bleiben erhalten. Ganz vereinzelt ziehen Fasern in der äußeren Kapsel.

Schnitt 50. Der Operationsschnitt verläuft entsprechend dem vorhergehenden Schnitt, links kommt dorsal das Ammonshorn dazu, das Infundibulum bildet sich. Rechts ist der Seitenventrikel so sehr erweitert, daß der Nucleus thal.

ant. weit abgedrängt wird. Die Massa intermedia hat sich gebildet. Der III. Ventrikel ist wieder geschlossen und wie das Infundibulum sehr stark erweitert. Im Zellbild erkennt man im Thalamus wieder zahlreiche Infiltrationen. Dichter stehende Nervenzellen finden sich im linken Thalamus in den Nuclei Tractus Meynert, habenulae, parependymalis und in Gebieten von centralis *a* und medialis *b*. Das Corp. gen. lat. läßt zwar seine dreischichtige Struktur ungefähr erkennen, aber normale Zellen sind kaum nachweisbar. In den übrigen Thalamuskernen mit den umschriebenen Entzündungsherden finden sich zwischen der Glia noch Nervenzellen, von denen ein großer Teil krankhafte Veränderungen zeigt, besonders sieht man viele geschrumpfte Zellen, die sehr stark gefärbt sind. Die Massa intermedia wird gut mit Zellen versorgt. Der Nucleus hypothalamus *b* fällt durch seinen Zellreichtum auf. Hier enthält der Lobus piriformis mehr Zellen als vorher. Die Rindenstruktur wird deutlich, lateral besser als medial. Die Zellen des Nucleus amygdalae haben zugenommen, wenn auch die kranken überwiegen. Das Ammonshorn zeigt normale Zellstruktur, die einzelnen Zellen sind zum größten Teil normal. Dorsal hängt am Ammonshorn noch etwas verödetes Balkengewebe. Auf der rechten Seite kann man Zellen mit Abbauprodukten zwischen dem Nucleus thal. anterior und dem Fornix feststellen. Der Nucleus anterior *a* der rechten Seite enthält nur sehr blasse Zellen. Der Nucleus caudatus ist geschrumpft. Auch auf dieser Seite treten in der inneren Kapsel kleine perivasculäre Infiltrate auf. Die Zellen des Putamens und des Globus pallidus sind hier in einem ganz guten Zustand. Vom Thalamus erkennt man Zellen der medialen Kerne. Der Nucleus parependym. ist in einem besseren Zustand als der linke in entsprechender Höhe. Der rechte Nucleus praethalamicus ist gut erhalten. Bei Markscheidenfärbung sieht man den linken Tractus opticus in das Corp. gen. lat. einstrahlen, das Chiasma opticum ist angeschnitten. Der linke Hirnschenkelfuß erscheint fast faserlos. Absteigender Fornix und Viq d'Azyrsches Bündel lassen sich schwach erkennen. Der Tractus Meynert beginnt. Im Ammonshorn wird die Faserstruktur angedeutet, die Fimbrie färbt sich nur schwach und der atrophische Lobus piriformis bleibt vollständig blaß. Auf der rechten Seite bleibt natürlich die innere Kapsel wieder sehr faserarm, besonders in den dorsalen Gebieten. Die Struktur des Putamens und des Globus pallidus wird angedeutet. Von der rechten Seite strahlen in die Massa intermedia mehr Fasern ein als von links, sie ist im ganzen faserarm.

Auf den kaudal folgenden Schnitten verschwindet der Seitenventrikel rechts; zunächst erscheint cystisches zelloses Narbengewebe, das in das Gebiet des Nucleus lateralis *a* und des Pulvinar fällt. Der dorsale Rand des Thalamus ist unscharf. Die Faserstruktur des Thalamus ist rechts besser erhalten als links, besonders in den ventralen medialen Abschnitten. Die Formatio reticulata läßt sich im Faser- und Zellbild erkennen. Rechts enthält der Nucleus reuniens viel mehr Zellen als links. Auf der linken Seite bessert sich das Zellbild noch etwas, um sich später wieder zu verschlechtern. Die Gebiete um den erweiterten III. Ventrikel und das Infundibulum lassen eine zellarme Zone erkennen, mit weitgehend geschädigten Zellen.

Abb. 3 (Schnitt 60). Der Operationsschnitt verläuft links wieder lateral im Lobus piriformis, läßt das Ammonshorn bis auf ein kleines dorsales Gebiet unverletzt und geht dorsal in Balkengewebe. Rechts geht er lateral vom Sulcus rhinicus posterior, im Gyrus ectosylvius, im Stabkranz, hier bleibt dorsal der Fornix. Im Nisslbild macht das Ammonshorn einen fast vollkommen normalen Eindruck; nur bei stärkerer Vergrößerung läßt sich an manchen Zellen ein leicht blasiges Aussehen nachweisen, besonders im dorsalen Feld. Der Lobus piriformis ist hier sehr atrophisch geworden und zeigt ein schlechtes Zellbild. Auf der rechten Seite bleibt er gut erhalten, die Rindenstruktur wird deutlich und der Nucleus amygdalae ist in einem guten Zustand. Das Unterhorn des Seitenventrikels bleibt geschlossen; man kann in dieser Höhe noch Zellen des Putamens erkennen. Der Hirnstamm wird

links so getroffen, daß sich die hintere Kommissur bildet. Der laterale Kniehöcker ist verschwunden, der mediale und der Pulvinar enthalten noch immer kleine zellige Infiltrate, der Pulvinar hat außerdem starke Gliavermehrung und enthält geschrumpfte Zellen. Der vordere Vierhügel besitzt viele geschädigte Zellen. Der Nucleus hypothalamus *b* wirkt im Zell- und Faserbild fast normal. Ebenso werden der Kern des Hirnschenkelfußes und das Corpus subthalamicum gut mit Zellen versorgt. Links verhalten sich Hirnschenkelfuß, absteigender Fornix und Viq d'Azyrsches Bündel wie auf dem vorher beschriebenen Schnitt. Auf der rechten Seite sieht man hier erst den Tractus opticus in den lateralen Kniehöcker einstrahlen. Auffallend ist die gut erhaltene Faserstruktur im ventralen Thalamusabschnitt. Im Feld des Stabkranzes ziehen nur ganz vereinzelt Fasern, lateral finden sich Fettkörnchenzellen. Im Nisslbild fällt eine kleine Erweichung lateral vom Nucleus habenulae auf. Der Nucleus lateralis *a* und das größte Gebiet des Pulvinar

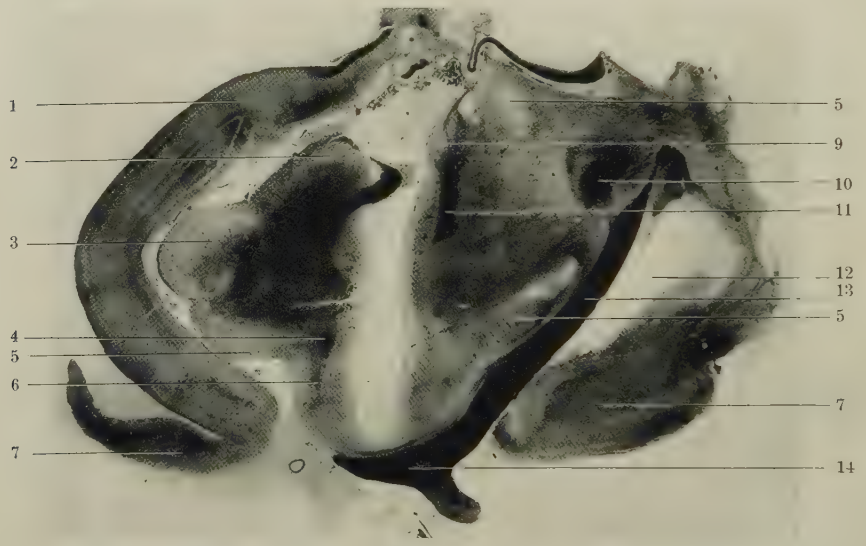


Abb. 3 (Schnitt 60). Kater *Kuno*. Vergrößerung $4^1/_2$mal. Markscheidenfärbung.
1. Ammonshorn. 2. Vorderer Vierhügel. 3. Corpus geniculatum mediale. 4. Viq d'Azyrsches Bündel. 5. Hirnschenkelfuß. 6. Absteigender Fornix. 7. Lobus piriformis. 8. Nucleus lateralis thalami. 9. Nucleus habenulae. 10. Ganglion geniculatum laterale. 11. Tractus Meynert. 12. Seitenventrikel. 13. Tractus opticus. 14. Chiasma optici.

enthalten keine Nervenzellen. Auch auf dieser Seite hat der Pulvinar kleine Entzündungsherde; Fasern der Radiatio optica strahlen in ihn nicht ein. Die wenigen Nervenzellen in seinem ventralen und lateralen Gebiet sind geschrumpft. Der Thalamus enthält dichter stehende Zellen in den Nuclei habenulae, parependymales und Tractus Meynert, wobei der letzte am besten wirkt. Die Nuclei med. *c* und central. *c* kann man abgrenzen. Im Nucleus ventralis fällt wieder die starke Gliavermehrung auf. Im lateralen Kniehöcker läßt sich hier auch die schichtweise Zellanordnung erkennen, doch sind die Zellen zum größten Teil nicht normal; am besten ist das Zellbild im Gangl. gen. lat. *a* erhalten.

Schnitt 64. Auf diesem Schnitt erscheint ein kleines Gebiet vom Ammonshorn rechts dorsal. Sonst sind die Umrisse dieselben geblieben wie auf dem vorhergehenden Schnitt. Rechts bleibt der Seitenventrikel offen, und der Lobus piri-

formis mit einem kleinen Gebiet der Area 36 wird erhalten. Im Markscheidenbild sieht man das Einstrahlen der Viq d'Azyrschen Bündel in die Corpora mammillaria, rechts finden sich mehr Fasern als links. Die hintere Kommissur enthält nur wenig Fasern. Zwischen den Hirnschenkelfüßen besteht ein merkbarer Unterschied; während der linke vollständig blaß bleibt, enthält der rechte vereinzelt zusammenhängende Faserbündel, die am dichtesten in der Mitte liegen. Links erscheint der hintere Bindearm, die Formatio reticulata läßt gut ihre Struktur erkennen. Das Corpus subthalamicum und der Nucleus des Hirnschenkelfußes sind rechts in einem guten Zustand. Auf der linken Seite zeigt der Nucleus ruber ein normales Zellbild. Hier beginnt auch die Substantia nigra, sie enthält nur wenige kranke Zellen. Der rechte vordere Vierhügel und das zentrale Höhlengrau besitzen sehr viele krankhaft veränderte Zellen, während die Formatio reticulata ein gutes Zellbild aufweist. Im linken Corpus mammillare lassen sich zwei Nuclei erkennen, wobei die Zellen des medialen weitgehender krankhaft verändert sind als die des

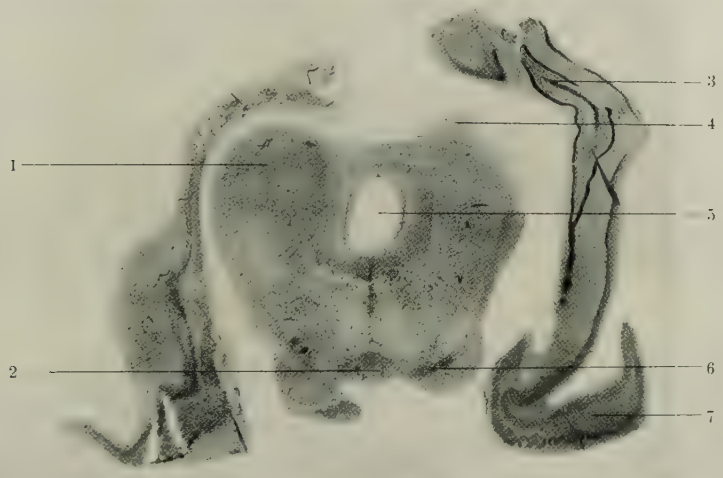


Abb. 4 (Schnitt 73). Kater *Kuno*. Vergrößerung $4^1/_2$ mal. Färbung nach Nißl. 1. Hinterer Vierhügel. 2. Ganglion interpeduncolare. 3. Ammonshorn. 4. Vorderer Vierhügel. 5. Aquädukt (erweitert). 6. Substantia nigra. 7. Lobus piriformis.

lateralen. Das rechte Corp. mammillare zeigt diese Verhältnisse hier noch nicht so deutlich. Im rechten medialen Kniehöcker finden sich noch immer kleine Infiltrationen.

Abb. 4 (Schnitt 73). Der Schnitt wird links in Höhe der beginnenden hinteren Vierhügel getroffen, rechts sieht man noch das kaudale Gebiet des vorderen Vierhügels. Die Operation verschont den Hirnstamm, sie verläuft links durch die Area 28, eröffnet das Hinterhorn des Seitenventrikels, geht im Markgebiet der Area 29 und läßt nur sehr wenig vom Gyrus fornicatus stehen. Rechts geht der Schnitt im Sulcus rhinicus posterior, verschont hier das Ammonshorn, von dem anfangs dorsales Gewebe fehlte, und läßt auch auf dieser Seite nur wenig vom Gyrus fornicatus übrig. Die Rindenteile zeigen in den Gebieten, die etwas vom Operationsschnitt entfernt sind, eine sehr gut erhaltene Struktur, wie links die Area 29 und rechts der Lobus piriformis. Bei sehr starker Vergrößerung lassen sich zum Teil kranke Zellen nachweisen, die in den dorsalen und ventralen Gebieten zunehmen. Die Rinde des rechten Lobus piriformis enthält am äußersten Rande noch kleine

zellige Infiltrationen, die auf vorhergehenden Schnitten stärker sind. Im Markscheidenbild sieht man links nur wenige Fasern im Markgebiet der Area 29. Rechts

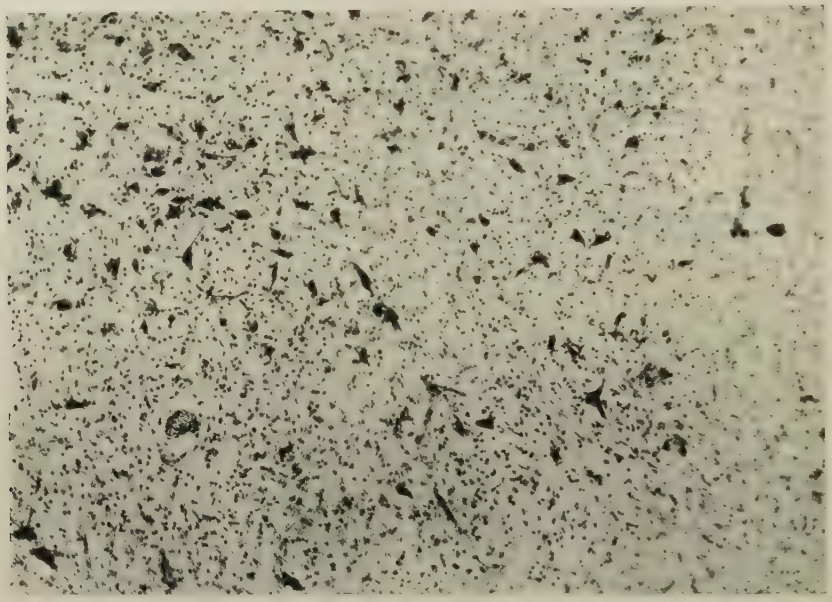


Abb. 5 a (Schnitt 70). Kater *Kuno*. Substantia nigra der linken Seite. Vergrößerung 140 mal. Nißl-Färbung.

Abb. 5 b (Schnitt 73). Substantia nigra der rechten Seite. Vergrößerung 140mal. Nißl-Färbung.

ist die Faserstruktur im Ammonshorn und im Lobus piriformis angedeutet. Im Hirnstamm lassen sich typische Zellen in allen Kernen nachweisen. Vierhügel, Ganglion interpedunculare und Brückenkerne enthalten viele krankhaft veränderte Zellen, während in der Formatio reticulata und in den Kernen der Raphe nur vereinzelt geschrumpfte nachzuweisen sind. Die Zellen des Oculomotoriuskernes wirken normal. Ebenso verhält sich auf den vorhergehenden Schnitten der Nucleus ruber. Die rechte Substantia nigra ist sehr zellreich und in einem viel besseren Zustand als die linke (Abb. 5a und 5b). Die Zellen stehen hier sehr dicht, zeigen aber auch auf dieser Seite zum Teil vakuoliges Protoplasma, unscharfe Zellgrenzen oder Schrumpfungserscheinungen. Im Markscheidenbild sind beide Hirnschenkelfüße sehr blaß. Die Struktur der Formatio reticulata und der lateralen Schleife läßt sich sehr gut erkennen. Im Gebiet der Forelschen Kreuzung findet man ventral mehr Fasern als lateral. In der Meynertschen Kreuzung lassen sich Fasern nachweisen. Das hintere Längsbündel macht einen normalen Eindruck. Rechts bleibt noch der hintere Bindearm, links beginnt die Brücke, beide Gebiete werden mit Fasern versorgt.

Links bleiben vom Occipitalhirn die Area 28 des Lobus piriformis und die Area 29 des Gyrus splen. post. bis zum Gyrus fornicatus. Die Area 29 behält am besten ihre Rindenstruktur. Weiter kaudal kommt noch ein Rest dorsal vom Gyrus splen. und ventral vom Gyrus lat. post. dazu. Am längsten bleibt der Gyrus splen. post. erhalten. Auf der rechten Seite finden sich dieselben Verhältnisse, aber die Rindengebiete sind atrophischer als links. Man sieht Teile der Areae 28 und 29 bis zum Gyrus fornicatus, später treten Gebiete der Gyri splen. post. und lat. post. auf, von denen der Gyrus splen. post auch am längsten erhalten bleibt. Beim Verschwinden des letzten Großhirnteiles hat der Lobus anterior des Kleinhirns schon seine volle Größe erreicht. Auf beiden Seiten bleibt am Occipitalhirn die Rindenstruktur weitgehend erhalten. Auf der linken Seite erscheint das Markgebiet sehr blaß, rechts finden sich stellenweise mehr Fasern. In den einzelnen Zellen lassen sich krankhafte Veränderungen nachweisen. Auf der linken Seite erscheinen am äußersten Rande kleine zellige Infiltrationen.

Auf den folgenden Schnitten lassen sich, außer in der Pyramidenbahn, keine merkbaren Faserausfälle nachweisen; die Struktur bleibt erhalten. Im Nisslbild sind andere Verhältnisse. Hier sieht man vereinzelt Zellveränderungen; so finden sich in den einzelnen Olivenkernen neben normalen einige geschrumpfte Zellen und solche mit vakuoligem Protoplasma. In dem ventralen Kern des N. VIII sind einige krankhaft veränderte Zellen zu sehen. Auch die anderen Kerne der Medulla sind nicht ganz frei von geschädigten Zellen; den besten Zustand zeigen die Zellen der motorischen Hirnnervenkerne. Die Kleinhirnrinde macht einen vollkommen normalen Eindruck, während sich in den Kernen einige wenige krankhaft veränderte nachweisen lassen (Schnitt 106).

Im Rückenmarksquerschnitt ist das Feld der rechten Pyramidenbahn faserärmer als das der linken. Dies liegt daran, daß die linke Großhirnhemisphäre weitgehender entfernt war als die rechte.

Zusammenfassung.

Neopallium. Am Frontalhirn bleiben vom Neopallium rechts der Gyrus proreus, Teile des Gyrus genualis, fornicatus und splenialis, links der Gyrus proreus und ein Rest des Gyrus genualis. Auf der rechten Seite sind die Rindenteile besser erhalten als links, sie enthalten weniger kranke Zellen. Balkenfasern lassen sich nicht nachweisen. Am Occipitalpol stehen beiderseits Gebiete der Gyri spleniales, splen. post. und lat. post. Hier sind

rechts die Großhirnteile atrophischer als links. Die Rindengebiete sind in einem ganz guten Zustand. In den inneren Kapseln bleiben nur wenige Fasern erhalten. Anfangs verläuft der Operationsschnitt in diesem Gebiet, später enthält sie rechts mehr Fasern als links. Im rechten Hirnschenkelfuß sind nachher mehr Fasern nachweisbar als im linken. Die vordere Kommissur bildet nur ein schmales Band. Das Claustrum wird links zum größten Teil von cystischem Narbengewebe ersetzt; rechts bleibt das ventrale Gebiet in einem guten Zustand erhalten.

Palaeopallium. Beide Bulbi olfactorii werden primär nicht verletzt, trotzdem lassen sich krankhaft veränderte Zellen nachweisen. Im Innern des Bulbus olfactorius rechts finden sich Zellen mit Abbauprodukten. Der linke Lob. olf. ant. wird dorsal verletzt. Die rechten Riechhirnanteile sind in einem viel besseren Zustand als die linken, kranke Zellen finden sich auf beiden Seiten. Das linke Riechhirngebiet ist stellenweise sehr verödet. Beide Lobi piriformi bleiben fast vollständig erhalten, der linke ist sehr atrophisch.

Archipallium. Das Ammonshorn bleibt auf beiden Seiten bis auf kleine dorsale Verletzungen erhalten, es ist in einem guten Zustand.

Neostriatum. Die Nuclei caudati werden anfangs lateral und dorsal verletzt, der linke ist in einem sehr schlechten Zustand, cystisch und verödet. Rechts wird er ganz gut mit Zellen versorgt, ist aber im ganzen atrophisch. Er enthält auf dieser Seite einige Fasern der Linsenkernschlinge. Das Putamen ist links auch fast ohne Zellen und narbig, rechts enthält es seine typischen Zellen, ist aber geschrumpft.

Palaeostriatum. Der Globus pallidus enthält links ventral Zellen, dorsal liegt er in Narbengewebe. Rechts ist er primär nicht verletzt, typische Faserstruktur und Zellen lassen sich nachweisen.

Archistriatum. In den atrophischen Gebieten der Nuclei amygdalae finden sich nur wenig normale Zellen.

Thalamus. Im Thalamus fallen kleine perivasculäre Gefäßinfiltrationen auf, die auf beiden Seiten besonders zahlreich in den Gebieten der Nuclei ventrales, mediales und im Pulvinar sind. Auf der linken Seite reicht von lateral eine Cyste in den Nucleus ventralis. Rechts nimmt eine Cyste das größte Gebiet des Nucleus anterior ein. Die übrigen Thalamuskerne bleiben erhalten, es lassen sich in allen Nervenzellen nachweisen, die in den medialen Kernen den besten Zustand aufweisen. Ein sehr schlechtes Zellbild haben die medialen und lateralen Kniehöcker. Die Nuclei ventrales haben starke Gliavermehrung. Rechts ist das Zellbild des Thalamus besser als links, auch die Faserstruktur wird rechts deutlicher.

Im Hypothalamus wird die typische Faserstruktur angedeutet, das Zellbild läßt neben normalen krankhaft veränderte Zellen erkennen.

Die Substantia nigra zeigt eine sehr deutliche Seitendifferenz; rechts enthält sie viele dicht stehende Zellen, während sie auf der linken Seite, wo die Reste des Striatums in einem sehr schlechten Zustand sind, nur vereinzelt Zellen erkennen läßt. Auf beiden Seiten finden sich neben normalen einige blasige und geschrumpfte Zellen.

Die Nuclei rubri haben ein normales Zellbild.

Im kaudal folgendem Hirnstamm lassen sich kranke Zellen in den Vierhügeln nachweisen. Ebenso enthalten die Kerne der Medulla vereinzelt geschrumpfte Zellen.

Die Kleinhirnrinde ist normal, der Nucleus dentatus enthält ganz vereinzelt geschrumpfte Zellen.

Ventrikel. Das Ventrikelsystem ist erweitert, am stärksten die Vorderhörner der Seitenventrikel und der III. Ventrikel. Der Aquädukt ist nur mäßig erweitert, der IV. Ventrikel ist normal.

Der Kater Kuno war, ebenso wie die anderen beiden Tiere, nach der Operation ein Striatumtier mit Großhirngebieten frontal und occipital. Die zahlreichen kleinen Entzündungen im Thalamus zeigen, daß im Resthirn die nachfolgenden Veränderungen noch lebhaft im Gang waren. Beim Tode des Tieres entsprach die linke Hirnseite einem Thalamustier, während die rechte etwa blieb entsprechend der Operation.

Nach der anatomischen Untersuchung der Hirnreste ist über die Funktion des pyramidal-motorischen Systems und der Sehzentren folgendes zu sagen:

Der Hirnrest der Katze „Muschi" besaß zwischen Narbengewebe noch einige unzusammenhängende Gebiete der motorischen Hirnrinde, links mehr als rechts. Diese Rindenreste waren zwar weitgehend verändert, hatten aber noch Verbindung durch Fasern der inneren Kapseln mit tiefer gelegenen Hirnteilen, auch waren im Rückenmark in den stark geschrumpften Feldern der Pyramidenbahn noch markhaltige Fasern nachweisbar. Man kann also bei „Muschi" von einer vollständigen Ausschaltung des pyramidal-motorischen Systems nicht sprechen, wenn es sich auch nur um geringe funktionelle Reste handeln kann. Es fragt sich nun, auf welche Muskelgruppen diese motorischen Rindengebiete überhaupt noch einen Einfluß ausüben konnten, handelt es sich ja nur um Gebiete, die der Area 6 angehören. Nach Weed und Langworthy* beeinflußt die Area 6 Gesichtsmuskulatur, Schulter- und Armmuskulatur der kontralateralen Seite. Man muß annehmen, daß bei „Muschi" bei Bewegungen des Gesichtes,

* Weed, Lewis H., u. Orthello R. Langworthy: Physiological study of cortical motor areas in Young kittens and in adult cats. Contribution to embryology, no. 87. 1926.

der vorderen Extremitäten und des Schultergürtels eine corticale Beteiligung nicht vollständig auszuschließen war, während auf die übrige Muskulatur das Großhirn sicher keinen Einfluß mehr hatte.

Anders verhält es sich mit der Sehrinde. Rindengebiete mit der typischen Struktur der Area striata waren am Occipitalpol nicht nachweisbar, auch fehlte den Resten der übrigen Occipitalrinde die Verbindung mit dem Stamm fast vollständig. Die Funktion der Sehrinde war bei „Muschi" sicher ausgeschaltet. Die subcorticalen Sehzentren blieben links viel besser erhalten als rechts, wo das Gebiet des lateralen Kniehöckers, des Pulvinars weitgehend cystisch und narbig verändert war. Die subcorticalen Sehzentren werden sicher noch beschränkt funktionsfähig gewesen sein.

„Hoppediez" besaß am Frontalpol zwar gut zusammenhängende Rindengebiete, sie reichten aber nicht mehr in die motorische Region hinein, von der Area 6 war nichts mehr vorhanden. Man wird hier mit einer Ausschaltung des pyramidalmotorischen Systems rechnen können.

Die Verhältnisse bei der Area striata sind bei „Hoppediez" dieselben wie bei „Muschi", auch hier war keine Sehrinde nachweisbar. Die subcorticalen Sehzentren schienen im Vergleich zu denen von „Muschi" und „Kuno" am schlechtesten erhalten, besonders auf der rechten Seite nahm sie eine Cyste fast vollständig ein, sie ging bis in das Vierhügelgebiet. Links fanden sich zwar weniger Cysten, aber sowohl vorderer Vierhügel als auch Pulvinar und lateraler Kniehöcker waren geschrumpft, die Faserverbindung vom Tractus opticus zum lateralen Kniehöcker zeigte stellenweise Unterbrechungen. Sicher war hier die Funktion des subcorticalen Sehapparates sehr eingeschränkt.

„Kuno" hatte frontal zusammenhängende Rindengebiete, sie reichten aber nur auf der rechten Seite bis in die Area 6 der motorischen Rindenregion. Faserverbindungen zu den tiefer gelegenen Hirnteilen waren vorhanden, man konnte sie bis in das Rückenmark verfolgen. Es ist anzunehmen, daß diese Rindenteile die entsprechende linke Gesichts-, Schulter- und Armmuskulatur noch beeinflussen konnten, wenn auch nur in einem sehr geringen Grade. Die übrige Körpermuskulatur war sicher frei von corticalen Einflüssen.

Die Area striata fehlte ebenso wie bei den beiden anderen Tieren, die subcorticalen Sehzentren zeigten die wenigsten Veränderungen im Vergleich zu „Muschi" und „Hoppediez", sie hatten aber zahlreiche kleine entzündliche Herde und zeigten an manchen Stellen Narbengewebe, so daß auch hier die Funktion sicher eingeschränkt war.

Es ergibt sich, daß „Muschi" die beste anatomische Grundlage für die pyramidale Motorik hatte, wenn sie sich auch nur in sehr geringem Maße auf Gesichts-, Schulter- und Armmuskulatur bezog. Bei „Hoppediez" kann man wohl von einer Ausschaltung des pyramidal-motorischen Systems

sprechen. „Kuno" konnte nur die linke Gesichts-, Schulter- und Armmuskulatur in einem sehr geringen Grade cortical beeinflussen.

Die Area striata war bei keinem der 3 Katzen sicher nachweisbar, so daß man hier mit einer funktionellen Ausschaltung rechnen kann. Die subcorticalen Sehzentren blieben bei „Kuno" am besten erhalten, „Muschi" stand in der Mitte. „Hoppediez" besaß am wenigsten davon. Bei „Muschi" und „Hoppediez" waren diese Gebiete rechts in einem auffallend besseren Zustand als links.

Literatur.

Winkler, C., u. A. Potter: An anatomical guide to experimental researches on the Cat's brain. Amsterdam 1914. — Weed, L. H., u. O. R. Langworthy: Physiological study of cortical motor areas in Young kittens and in adult cats. Contributions to Embryology, No. 87. (Extracted from Publikation No. 362 of the Carnegie Institution of Washington. Pages 89 to 106. Published February 1926.)

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Wien.

Der Einfluß von Ultraviolettbestrahlung auf Adrenalin und adrenalinähnliche Körper.

I. Mitteilung: Adrenalin und Sympatol*.

Von

Heribert Konzett und Wolfdietrich Weis.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 19. Juli 1939.)

Im Schrifttum finden sich widersprechende Angaben über den Einfluß von ultraviolettem Licht auf Adrenalin. Japanische Autoren[1–4] berichten über eine Zunahme der Adrenalinwirkung auf Blutdruck, Blutzucker, Darm und Uterus nach Ultraviolettbestrahlung**. In Gegensatz zu dieser Beobachtung stehen Angaben amerikanischer Autoren, die bei Ultraviolettbestrahlung (im folgenden mit UVB bezeichnet) von Adrenalin schon nach 10 Minuten eine Abnahme der Blutdruckwirksamkeit bemerkten[5]; wurde die Bestrahlung durch 35 Minuten fortgesetzt, so trat statt der Steigerung des Blutdrucks eine Senkung auf. Da kleine Adrenalindosen auch blutdrucksenkend wirken können, nehmen die Autoren[5] zur Erklärung dieser Erscheinung an, daß durch die UVB der größte Teil des Adrenalins zerstört worden sei; die Blutdrucksenkung wäre dann auf die noch übriggebliebenen Spuren von Adrenalin zurückzuführen. Eine Abnahme der Adrenalinwirksamkeit nach UVB wurde etwa gleichzeitig auch von anderen Forschern beschrieben. Ewing und Mitarbeiter[6, 7] untersuchten den Einfluß der UVB auf Adrenalin, Sympatol (= Synephrin) und Ephedrin und fanden ein merkwürdiges gegensätzliches Verhalten: Adrenalin büßt an blutdruck- und blutzuckersteigernder Wirksamkeit ein, während Sympatol hinsichtlich dieser Eigenschaften an Wirkungsstärke

---

* Über einige Versuchsergebnisse wurde in der Klin. Wsch. **17**, 1736 (1938) kurz berichtet.

** Bei langer Belichtungsdauer soll allerdings statt der Wirkungssteigerung eine Wirksamkeitsabnahme aufgetreten sein. Wir konnten nicht feststellen, wie lange in solchen Fällen bestrahlt wurde, da uns die angeführten Arbeiten nur in Referaten zugänglich waren. (Siehe Berichte ü. d. ges. Phys. u. exper. Pharm. **62**, 19, 825; **104**, 99).

[1] Terata, B., u. J. Ryôichi: Fol. pharmacol. jap. **12**, H. 1 (1931). — [2] Terata, B., u. J. Ryôichi: Ebenda **12**, H. 2 (1931). — [3] Terata, B., u. J. Ryôichi: J. of orient. Med. **26**, Nr. 4 (1937). — [4] Terata, B., u. J. Ryôichi: Ebenda **26**, Nr. 5 (1937). — [5] Verda, D. J., L. Kneer u. W. E. Burge: J. Pharmacol. (Am.) **42**, 383 (1931). — [6] Ewing, P. L., P. Blickensdorfer u. H. A. Mc Guigan: Ebenda **43**, 125 (1931). — [7] Ewing, P. L.: Ebenda **48**, 273 (1933).

zunimmt. Ephedrin verliert wie Adrenalin an Wirkung und führt schließlich zu einer Blutdrucksenkung.

Als Ursache dieser Wirkungsänderung nehmen die Autoren oxydative, durch die UVB ausgelöste Vorgänge an, ohne jedoch auf die Frage einzugehen, warum eine gleichartige Behandlung mit Ultraviolettlicht bei Adrenalin zu einer Wirkungsabnahme, bei Sympatol dagegen zu einer Wirkungszunahme führt.

Eine Erklärung für die „Wirkungsverstärkung" von Sympatol schien uns aus den Kurven von Ewing und Mitarbeitern[6] hervorzugehen; sie zeigen nämlich, daß Sympatol nach UVB nicht nur stärker, sondern auch andersartig wirkt. Statt der sonst langanhaltenden Blutdrucksteigerung sehen wir nach der Bestrahlung einen steilen, nur kurz dauernden Anstieg, somit ein Kurvenbild, das in seinem Ablauf einer Adrenalinwirkung weitgehend ähnlich ist. Es lag somit die Vermutung nahe, die Wirkungsänderung des Sympatols auf eine Bildung von Adrenalin zurückzuführen. Wir berichten im folgenden über Versuche, die zur Klärung dieser Frage bestimmt waren.

I. Methodik der Bestrahlung.

Als Lichtquelle diente eine Hanauer Quarzlampe („Bachsche Höhensonne" für Gleichstrom, 4 Amp.). Die Lösungen wurden meist in runden offenen Glasschalen von 6 cm Durchmesser bestrahlt. Der Abstand von der Quarzlampe betrug 10—16 cm. Die Menge der bestrahlten Flüssigkeit und damit die Schichthöhe war nicht in allen Versuchen gleich; sie änderte sich auch in ein und demselben Versuch, da wir während der Bestrahlung in bestimmten Zeitabständen Flüssigkeitsproben aus den Schalen entnahmen. Kontrollversuche zeigten, daß die Höhe der bestrahlten Flüssigkeitssäule im Bereich von 1—11 mm keinen Einfluß auf das Ergebnis hatte.

In einigen Versuchen ließen wir während der Bestrahlung Sauerstoff durch die Lösung perlen, in anderen bestrahlten wir unter Sauerstoffabschluß. Dabei verwendeten wir zur Aufnahme der Lösungen Reagenzgläser aus Uviolglas, die mit einem eingeschliffenen und gefetteten Glasdeckel luftdicht zu verschließen waren. Durch den Deckel führten zwei verschieden lange eingeschmolzene Glasrohre; eines reichte bis an den Grund des Gefäßes, das andere endete gleich an der Innenseite des Deckels. Vor der Bestrahlung wurde der Sauerstoff aus den Gefäßen und der Lösung durch Stickstoff ausgetrieben. Wir leiteten den aus einer Gasbombe entnommenen Stickstoff zunächst über glühenden Kupferdraht, um ihn von Sauerstoffbeimengungen zu befreien. Dann gelangte der Stickstoff durch das lange Rohr in die Lösung, durchströmte sie und konnte durch das kurze Rohr wieder entweichen. Diese Vorbehandlung dauerte etwa 30 Minuten; hierauf wurden Gummischläuche an den äußeren Enden des Zu- und Ableitungsrohres mit Schlauchklemmen fest verschlossen. In ähnlicher Weise ließen wir durch einige Proben vor der Bestrahlung Sauerstoff strömen.

Zur Einschränkung von Erwärmung und Verdunstung wurden die Lösungen während der Bestrahlung mit fließendem Wasser gekühlt. Die Gefäße mit den Lösungen standen zu diesem Zweck auf einem Drahtgeflecht in einer Glaswanne, durch die Leitungswasser strömte. Die stete Erneuerung des Wassers gewährleistete eine vollständig ausreichende Kühlung. Auch nach einer Bestrahlungszeit von 5—6 Stunden waren nur unbedeutende Flüssigkeitsverluste zu beobachten.

II. Versuchsergebnisse.

A. Adrenalin.

1. Farbänderung durch Bestrahlung.

Wir verwendeten Lösungen von Adrenalinhydrochlorid in Konzentrationen von 1:10000, 1:25000, 1:50000, 1:100000. Die Verdünnungen stellten wir mit physiologischer Kochsalzlösung her, um sie nach der Bestrahlung ohne weiteres injizieren zu können.

Im Laufe der Bestrahlung verfärbt sich die Lösung; die ursprünglich farblose Flüssigkeit nimmt schon nach 15 Minuten einen rötlichen Farbton an, der sich bei fortgesetzter Bestrahlung vertieft, dann in Gelb umschlägt; schließlich wird die Lösung wieder farblos. Konzentriertere Lösungen verfärben sich etwas später als verdünnte, brauchen aber auch länger zur Entfärbung. Tabelle 1 veranschaulicht dieses Verhalten.

Tabelle 1.

Verfärbung von Adrenalinlösungen verschiedener Konzentration bei Ultraviolettbestrahlung.

Bestrahlungszeit in Min.	1 : 10 000	1 : 25 000	1 : 50 000	1 : 100 000
15	farblos	schwachrötlich	schwachrötlich	schwachrötlich
30	farblos	schwachrötlich	schwachrötlich	rötlichgelb
60	schwachrötlich	rötlich	rötlich	rötlichgelb
90	rötlich	schwachrötlich	schwachrötlich	farblos
150	schwachrötlich	schwachrötlich	farblos	
240	schwachrötlich	farblos		
300	rötlichgelb			
360	gelblich			
420	farblos			

2. Auswertung bestrahlter Adrenalinlösungen.

a) Blutdruckwirkung. Untersucht man die bestrahlten Lösungen nach dem für die Adrenalinauswertung gebräuchlichen Verfahren am Blutdruck dekapitierter Katzen, so zeigt sich eine von der Dauer der Bestrahlung und der Konzentration der Lösung abhängige Abnahme der pressorischen Wirkung.

Es sei zunächst an Hand der in Abb. 1 dargestellten Kurven die Blutdruckwirkung einer Lösung von Adrenalinhydrochlorid 1:10000 nach verschiedener Bestrahlungszeit besprochen. In *A* ist der Blutdruckanstieg nach 10 γ unbestrahltem Adrenalin, das ist 0,1 ccm der Lösung, registriert. UVB von 15 Minuten (*B*) und von 30 Minuten (*C*) beeinträchtigt die Wirksamkeit nicht wesentlich. Immerhin ist eine geringe Abnahme bemerkbar. Bei gesteigerter Bestrahlungsdauer (60 Minuten: *D*, 90 Minuten: *E*, 150 Minuten: *F*) tritt die Verringerung der Wirksamkeit immer deutlicher in Erscheinung. Besonders auffällig ist die Einbuße nach einer Bestrahlung von

240 Minuten (*G*). Nach 300 Minuten ist 0,1 ccm der Lösung, der ursprünglich 10 γ Adrenalin enthielt, vollkommen wirkungslos geworden; erst die fünffache Menge (0,5 ccm: *H*) bewirkt einen Druckanstieg, der etwa 2 γ Adrenalin entspricht (*K*). Wird die Bestrahlung noch eine Stunde fortgesetzt, so ist zum gleichen Effekt sogar 1 ccm der Lösung notwendig (*J*).

Adrenalinlösungen von geringerer Konzentration verlieren ihre Wirksamkeit rascher. Bei einer Verdünnung von 1:25000 genügen 150 Minuten UVB, um 0,25 bzw. 0,5 ccm entsprechend 10 γ bzw. 20 γ Adrenalin unwirksam zu machen. In einer Verdünnung von 1:100000 ist dieser Zerstörungsgrad schon nach 90 Minuten erreicht.

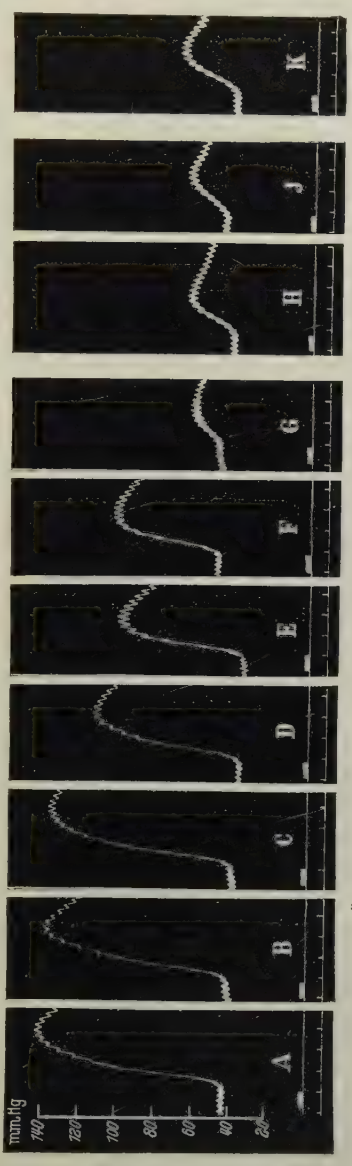


Abb. 1. Katze, 1,6 kg. In Äthernarkose dekapitiert. Blutdruckregistrierung mit Quecksilbermanometer aus der Art. fem. Zeitschreibung: 10 Sek. Alle Injektionen intravenös. Adrenalinlösung 1:10000. *A*: 10 γ Adrenalin unbestrahlt. Beachte in den folgenden Bildern die Wirkungsabnahme nach 15 (*B*), 30 (*C*), 60 (*D*), 90 (*E*), 150 (*F*) und 240 Min. (*G*) Ultravioletttbestrahlung. Bei *H* wurden 50 γ durch 300 Min. ultravioletttbestrahltes Adrenalin (0,5 ccm) injiziert, da 10 γ völlig wirkungslos waren. *J*: 100 γ Adrenalin 360 Min. bestrahlt. Vergleiche damit die Blutdrucksteigerung nach 2 γ unbestrahltem Adrenalin (1:100000) in *K*.

b) Fluoreszenz-Reaktion. Nach Angabe von Gaddum und Schild[8] geben schon Spuren von Adrenalin ($1:10^{-8}$) auf Zufügen von starkem Alkali in Gegenwart von Sauerstoff eine grüne Fluoreszenz. Wir benutzten diese Reaktion zu unseren Untersuchungen in der Weise, daß 1—3 ccm der zu prüfenden Lösung mit dem ultravioletten Licht einer Bogenlampe (Fluoreszenzapparat nach Heimstädt) beleuchtet wurden. Der sichtbare Teil des Spektrums war durch Glasfilter ausgeschaltet. Nach Zugabe von 0,1 bis 0,3 ccm 5 N NaOH wurde auf das Erscheinen der Fluoreszenz geachtet und ihre Intensität mit bekannten Adrenalinkonzentrationen verglichen.

[8] Gaddum, J. H., u. H. Schild: J. Physiol. (Brit.) **80**, 9 P. (1934).

Die Prüfung ergab eine Abnahme der Fluoreszenz in bestrahlten Adrenalinlösungen. Bemerkenswert erschien dabei die weitgehende Übereinstimmung zwischen der Abnahme der Leuchterscheinungen und dem Schwinden der Blutdruckwirkung. So ist z. B. die Fluoreszenz einer Adrenalinlösung 1:10000 nach 300 Minuten UVB fast vollkommen verschwunden, die einer Lösung 1:50000 bzw. 1:100000 schon nach 150 Minuten.

3. Bestrahlung von Adrenalinlösungen in Sauerstoff- und Stickstoffatmosphäre.

Adrenalinlösungen sind bekanntlich lichtempfindlich und verlieren durch Oxydation leicht ihre Wirksamkeit. Dies veranlaßte vermutlich die amerikanischen Autoren[6, 7], bei der Zerstörung des Adrenalins durch UVB an oxydative Vorgänge zu denken. Wir bestrahlten Adrenalinlösungen in Reagenzröhrchen vergleichend unter Luftzutritt und Sauerstoffausschluß

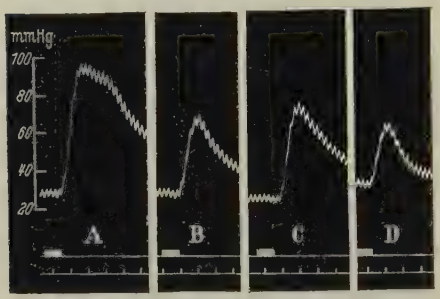


Abb. 2. Katze, 2,5 kg. In Äthernarkose dekapitiert. Blutdruckregistrierung mit Quecksilbermanometer aus der Art. fem. Zeitschreibung: 10 Sek. Alle Injektionen intravenös. Die Adrenalinbestrahlung wurde in Uviolglasprouvetten vorgenommen. In *A* ist zunächst die Wirkung von 20 γ unbestrahltem Adrenalin dargestellt. Beachte die Unterschiede zwischen *B*: 20 γ Adrenalin 160 Min. bei Luftzutritt bestrahlt, und *C*: dieselbe Adrenalinmenge gleichlang, jedoch in Stickstoffatmosphäre bestrahlt. *D*: 20 γ Adrenalin nach 320 Min. UVB in Stickstoffatmosphäre.

(Stickstoff-Füllung, s. Methodik), um auf diese Weise Kenntnis über die Bedeutung des Sauerstoffs für die Wirkungsabnahme von Adrenalin bei UVB zu erlangen*. Die Verfärbung der Lösung bei Bestrahlung trat auch bei Stickstoff-Füllung auf, sie war nur etwas schwächer als bei Luftzutritt. Im Blutdruckversuch zeigte sich ebenfalls nur ein geringer Unterschied. Als Beispiel sei Abb. 2 angeführt: *A* stellt den pressorischen Effekt von 20 γ unbestrahltem Adrenalin (1:10000) dar. Die Wirkungseinbuße nach 160 Minuten UVB in Stickstoffatmosphäre (*C*) ist etwas geringer als in Gegenwart von Sauerstoff (*B*). Bei fortdauernder Bestrahlung (320 Minuten in *D*) nimmt die Blutdruckwirksamkeit auch in Stickstoffatmosphäre weiter ab. Aus diesem Versuch ergibt sich, daß UVB auch ohne Zutritt von Sauerstoff Adrenalin zu zerstören vermag; andererseits konnten wir durch ein Überangebot von Sauerstoff mittels Durchperlen der bestrahlten Lösung keine beschleunigte Zerstörung feststellen.

* Obwohl Uviolglas für ultraviolettes Licht durchlässig ist, tritt die Wirkungsabnahme der Adrenalinlösungen unter sonst gleichen Bedingungen bei Bestrahlung in Uviol-Reagenzröhrchen später ein als in offenen Glasschalen.

B. Sympatol.

1. Farbänderung durch Bestrahlung.

Sympatol wurde als Tartrat in Konzentrationen von 1:1000, 1:5000, 1:10000, 1:50000 bestrahlt. Als Lösungsmittel diente 0,9%iges NaCl.

Sympatollösungen nehmen unter dem Einfluß des ultravioletten Lichts eine rote Farbe an. Schon nach kurzer Zeit, längstens nach 15 Minuten, ist ein zart rosaroter Farbton zu erkennen, der bei fortgesetzter Bestrahlung (60 bis 90 Minuten) an Intensität zunimmt. Erst nach längerer Einwirkung (5 bis 6 Stunden) werden die Lösungen gelbrot, dann gelb und schließlich farblos. Verdünnte Lösungen unterliegen diesem Farbwechsel rascher als konzentrierte, bei welchen für den Übergang von Rot in Gelb eine Bestrahlungsdauer von 20 Stunden und mehr notwendig sein kann.

2. Prüfung bestrahlter Sympatollösungen am Blutdruck.

UVB führt zu einer Änderung der Blutdruckwirkung von Sympatollösungen, die von der Dauer der Bestrahlung abhängig ist. An Hand der Abb. 3 sei der Wirkungsablauf näher beschrieben. Es wurde eine Lösung von Sympatoltartrat 1 : 5000 verwendet. *A* zeigt zunächst den geringen blutdrucksteigernden Effekt von 200 γ (= 1 ccm) unbestrahltem Sympatol. Nach einer Bestrahlung von 30 Minuten (*B*) rufen 0,5 ccm der Lösung, die nur 100 γ Sympatol entsprechen würden, eine bedeutend stärkere Blutdrucksteigerung hervor als 200 γ unbestrahltes Sympatol. Diese Wirkungssteigerung tritt nach 60 Minuten (*C*) und weiterhin nach 90 Minuten Bestrahlung (*D*) immer mehr hervor. 100 γ Sympatol

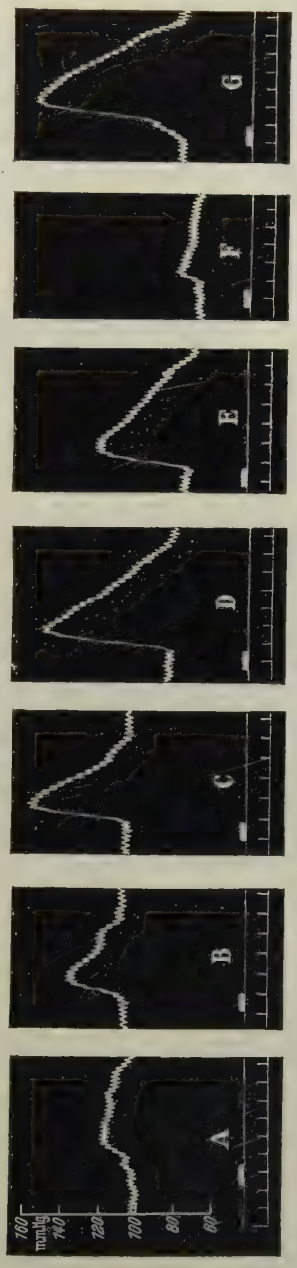


Abb. 3. Katze, 3,7 kg. In Äthernarkose dekapitiert. Blutdruckregistrierung mit Quecksilbermanometer aus der Art. fem. Zeitschreibung: 10 Sek. Alle Injektionen intravenös. *A*: 200 γ Sympatol unbestrahlt. *B*: 100 γ Sympatol 30, *C*: 60, *D*: 90, *E*: 150 Min. bestrahlt. Beachte bei *A* den geringen Druckanstieg nach 200 γ unbestrahltem Sympatol, die Zunahme der pressorischen Wirkung durch UVB in *B*, *C*, *D* — vergleiche damit den Druckanstieg nach 10 γ Adrenalin in *G* — und die bei fortgesetzter Bestrahlung erfolgende Wirkungsabnahme in *E* und *F*.

ergeben nach 90 Minuten UVB die Blutdruckwirkung von etwa 10 γ Adrenalin (*G*). Weiterbestrahlung schwächt die Wirksamkeit wieder ab; nach 150 Minuten hat die Wirkungszunahme den Gipfelpunkt schon überschritten (*E*), nach 240 Minuten ist der pressorische Effekt nur mehr angedeutet (*F*)*.

Dieser Versuch, der aus vielen gleichartig verlaufenen herausgegriffen ist, zeigt sehr anschaulich den Einfluß der Bestrahlungszeit. Die Annahme liegt nahe, daß durch die UVB aus Sympatol ein pressorisch hochwirksamer Körper entsteht, der bei weiterer Einwirkung ultravioletten Lichts wieder zerstört wird. Beide Eigenschaften, die starke Blutdruckwirksamkeit und die Zerstörung im Ultraviolettlicht, kommen dem Adrenalin zu. Ebenso deutet auch der Verlauf der Blutdruckkurven, steiler Anstieg und Abfall, auf Adrenalin.

Es galt nun, Adrenalin in bestrahlten Sympatollösungen nachzuweisen.

3. Biologischer Nachweis von Adrenalin in bestrahlten Sympatollösungen.

a) Umkehr der Blutdruckwirkung nach Ergotamin. Nach Vorbehandlung mit Ergotoxin bzw. Ergotamin führt Adrenalin bekanntlich nicht mehr zu einer Blutdrucksteigerung, sondern zu einer Senkung. Diese charakteristische „Umkehrreaktion" fehlt dem Sympatol; statt einer Umkehr kommt es bloß zu einer Abschwächung der Blutdruckwirkung. Wir haben nun bestrahlte Sympatollösungen auf ihr Verhalten nach Vorbehandlung mit Ergotamin geprüft. In Abb. 4 ist das Ergebnis eines solchen Versuchs dargestellt. An der mit 3 mg Gynergen (= Ergotamintartrat) vorbehandelten Katze bewirken 35 γ Adrenalin (*A*) eine deutliche „Umkehrreaktion". Unbestrahltes Sympatol (6 mg) führte nicht zu einem Blutdruckabfall, seine pressorische Wirkung wurde durch Gynergen nur abgeschwächt (*C*). Dagegen konnte mit 350 γ Sympatol, das 60 Minuten bestrahlt worden war, eine einwandfreie „Umkehrreaktion" hervorgerufen werden (*B*).

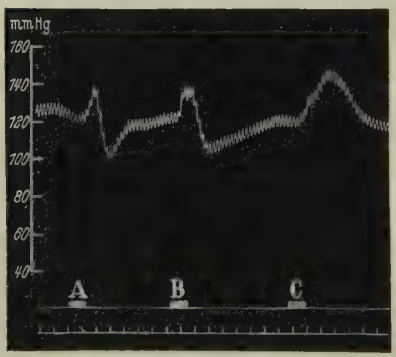


Abb 4. Katze von Versuch Abb. 3 nach intravenöser Gabe von 3 mg Gynergen. *A*: 35 γ Adrenalin i. v. *B*: 350 γ Sympatol 60 Min. bestrahlt i. v. *C*: 6 mg Sympatol unbestrahlt i. v. Beachte das gleichsinnige Verhalten von Adrenalin und bestrahltem Sympatol.

* Die hier angegebenen Zeiten gelten streng nur für die Sympatolkonzentration 1 : 5000. Werden stärkere Konzentrationen gewählt, z. B. 1 : 1000, so ist nach 24stündiger Bestrahlung noch keine Abschwächung der Blutdruckwirksamkeit nachweisbar, während umgekehrt bei verdünnteren Lösungen (z. B. 1 : 10000) der Gipfel der pressorischen Wirkung schon nach 60—90 Minuten erreicht ist.

Wir haben die „Umkehrreaktion" von bestrahltem Sympatol in mehreren Versuchen geprüft; dabei verhielt sich bestrahltes Sympatol immer wie Adrenalin. Durch dieses Ergebnis wird die Annahme einer Adrenalinbildung in ultraviolettbestrahlten Sympatollösungen wesentlich gestützt.

b) Verhalten an der Nickhaut der Katze. Adrenalin bewirkt nach intravenöser Injektion ein rasch vorübergehendes Zurückziehen der Nickhaut. Wir verglichen damit die Wirkung von bestrahltem und unbestrahltem Sympatol.

Die Tiere befanden sich in Urethan (0,25 g/kg subcutan) — Chloralose (0,1 g/kg intravenös) = Narkose. Ein durch die Nickhaut gezogener Faden war über eine Rolle mit einem Schreibhebel verbunden, der die Bewegungen auf einem Kymographion verzeichnete.

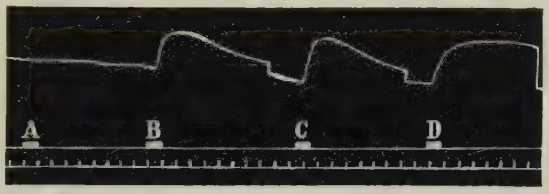


Abb. 5. Katze, 3 kg. Urethan-Chloralose-Narkose. Registrierung der Nickhautbewegungen. Alle Injektionen intravenös. *A*: 300 γ unbestrahltes Sympatol sind wirkungslos. *B*: 300 γ Sympatol 90 Min. bestrahlt; vergleiche damit die Wirkung von 30 γ Adrenalin in *C* und die von 6 mg unbestrahltem Sympatol in *D*.

In Abb. 5 werden die Wirkungen von Adrenalin, bestrahltem und unbestrahltem Sympatol gezeigt. 300 γ unbestrahltes Sympatol sind wirkungslos (*A*). Nach einer Bestrahlung von 90 Minuten ist eine Wirkung festzustellen (*B*), die etwa der von 30 γ Adrenalin (*C*) entspricht. Auch der Verlauf der Nickhautkontraktion zeigt in beiden Fällen eine weitgehende Übereinstimmung. Mit unbestrahltem Sympatol läßt sich erst nach einer 200mal größeren Dosis (6 mg in *D*) eine gleichstarke Reaktion der Nickhaut erzielen; die Wirkung ist aber in diesem Fall viel anhaltender als nach bestrahltem Sympatol.

Wir finden also auch hier, daß Sympatol durch UVB adrenalinartig wirkt.

Zur Ergänzung der biologischen Prüfung führten wir noch die folgenden Bestimmungen durch.

4. Chemischer Nachweis von Adrenalin in bestrahlten Sympatollösungen.

a) Fluoreszenz-Reaktion. Die bestrahlten Sympatolproben wurden in gleicher Weise wie Adrenalin untersucht (s. S. 443). Sympatol wies unbestrahlt keine Leuchterscheinungen auf. Dagegen stellte sich schon nach einer UVB von 15 Minuten in allen untersuchten Konzentrationen (1:1000—1:50000) eine grüne Fluoreszenz ein. Die Stärke der Fluoreszenz

war abhängig von der Konzentration der Lösung und der Dauer der Ultravioletttbehandlung; bei fortgesetzter Bestrahlung konnte gleichlaufend mit dem Anstieg, der Abnahme und dem Verschwinden der pressorischen Wirksamkeit (s. S. 445) auch ein Zunehmen, Abnehmen und Verschwinden der Fluoreszenz beobachtet werden. So zeigte z. B. eine Lösung von Sympatoltartrat 1:5000 nach fünfstündiger Einwirkung ultravioletten Lichts keine Fluoreszenz mehr.

Da sich mit der Fluoreszenzprobe keine sicheren quantitativen Angaben über den Adrenalingehalt der bestrahlten Lösungen machen ließen, wurde in den Untersuchungsgang auch die kolorimetrische Adrenalinbestimmung von Shaw [9] einbezogen. Mit dieser Methode sind noch Adrenalinkonzentrationen von 10^{-7} mengenmäßig zu erfassen.

b) Kolorimetrische Bestimmung. Die von Shaw angegebene Methode [9] beruht auf der Reduktion von Arsenmolybdänsäure durch Adrenalin unter Auftreten einer Blaufärbung. Diese Farbreaktion wird zwar auch durch andere Substanzen hervorgerufen; doch zeigen Adrenalin und Sympatol als einzige unter den untersuchten Stoffen eine verstärkte Blaufärbung nach Vorbehandlung mit Alkali. Sympatol stört in einem Gemisch mit Adrenalin kaum, falls es nur in geringen Mengen vorhanden ist, da es erst in 2000fach höherer Konzentration als Adrenalin Blaufärbung hervorruft.

Wir konnten in unseren Versuchen den Arbeitsgang der Methode, die ursprünglich für den Nachweis von Adrenalin in Gewebsextrakten ausgearbeitet wurde, vereinfachen. So wurden die Behandlung mit Trichloressigsäure und die erste Adsorption an $Al(OH)_3$ bei saurer Reaktion weggelassen. Die Einzelheiten der Methode sind aus der Arbeit von Shaw [9] zu entnehmen.

Bei jeder Prüfung einer bestrahlten Lösung mußten im gleichen Arbeitsgang eine Leerprobe aus den Reagenzien allein und Vergleichsproben mit bekanntem Adrenalingehalt in gewählter Abstufung mitbestimmt werden. Mit einem Kolorimeter wurde dann zunächst die Farbe der Leerprobe, hierauf die der bekannten Adrenalinlösungen und der zu untersuchenden bestrahlten Sympatollösungen bestimmt. Der Leerwert, d. h. die Farbe, die von den Reagenzien allein im Arbeitsgang gebildet wurde, mußte von den gefundenen Werten der Adrenalin- bzw. der bestrahlten Sympatollösungen abgezogen werden.

Abb. 6 zeigt das Ergebnis der kolorimetrischen Auswertung einer bestrahlten Sympatollösung. Auf der Abszisse sind die Adrenalinmengen bekannter Adrenalinlösungen, auf der Ordinate die relativen Farbintensitäten, gemessen mit dem Kolorimeter, aufgetragen. Die Punkte *A*, *B*, *C*, *D* geben die Werte der in den abgestuften Standardlösungen enthaltenen Adrenalinmengen vermindert um den Leerwert der Reagenzien an. Die

[9] Shaw, F. H.: Biochem. J. (Brit.) **32**, 19 (1938).

Verbindung der Punkte ergibt eine Kurve, die innerhalb eines gewissen Bereichs geradlinig verläuft. In diese „Eichkurve" sind nun die kolorimetrisch ermittelten Farbwerte der bestrahlten Sympatollösungen, gleichfalls nach Abzug des Leerwerts, eingetragen; ihr Adrenalingehalt läßt sich einfach ablesen. Verwendet wurden zur Bestimmung Proben von je 0,1 ccm der Sympatoltartratlösung 1:5000, mit Aqua dest. auf 1 ccm aufgefüllt; so kleine Mengen Sympatol (20 γ) geben ohne Bestrahlung keine Blaufärbung. Die Bestrahlungszeit dauerte 60 (I), 90 (II) und 150 (III) Minuten. Es zeigte sich, daß die im Blutdruckversuch ermittelten Adrenalinwerte in zureichender Übereinstimmung auch mit diesem Verfahren gefunden wurden. Die Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit geht aus Abb. 6 deutlich hervor. Das Maximum der Adrenalinmenge wurde nach 90 Minuten Bestrahlungszeit (II) beobachtet. In diesem Zeitpunkt enthielt die Flüssigkeitsmenge, in der vor der Bestrahlung 20 γ Sympatol vorhanden waren, etwa 2 γ Adrenalin. Auf dieses Verhältnis zwischen ursprünglich vorhandenem Sympatol und gebildetem Adrenalin kommen wir noch in der Besprechung der Ergebnisse zurück.

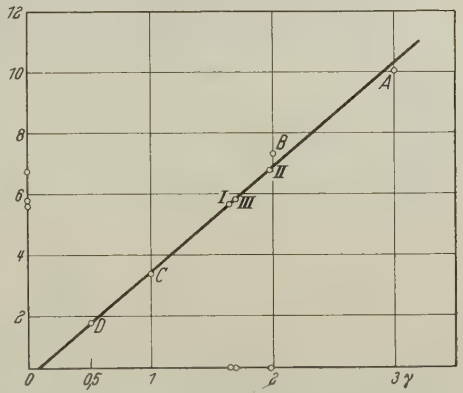


Abb. 6. Erklärung siehe Text.

5. Bestrahlung von Sympatollösungen in Sauerstoff- und Stickstoffatmosphäre.

Die angeführten biologischen und chemischen Prüfungen lieferten den Nachweis von Adrenalin in bestrahlten Sympatollösungen. Es lag nun nahe, den Einfluß von Sauerstoff auf diese Umsetzung von Sympatol in Adrenalin zu untersuchen. Zu diesem Zweck wurden Bestrahlungsversuche in sauerstofffreier und sauerstoffgesättigter Atmosphäre durchgeführt (s. Methodik, S. 441). Die Prüfung am Blutdruck zeigte, daß Sympatollösungen bei Abwesenheit von Sauerstoff unter UVB nicht blutdruckwirksamer wurden. Auffällig war auch, daß Sympatollösungen in Stickstoffatmosphäre trotz UVB keine Farbänderungen zeigten. Abb. 7 veranschaulicht die Blutdruckwirkung nach UVB in Stickstoff- und in Sauerstoffatmosphäre sowie bei Luftzutritt. 400 γ unbestrahltes Sympatol (2 ccm einer Lösung 1:5000) sind kaum druckwirksam (*A*). Die Bestrahlung in Stickstoffatmosphäre läßt die pressorische Wirkung völlig unbeeinflußt (*B*), während bei Sauerstoffzutritt eine erhebliche Wirksamkeitssteigerung (*C* und *D*) eintritt. Dabei war es gleichgültig, ob die Lösung

vor der Bestrahlung — Gleiches gilt auch während der Bestrahlung — mit Sauerstoff durchströmt worden war; in beiden Fällen kam es zu einem gleich starken adrenalinähnlichen Blutdruckanstieg (vgl. *C*, *D* und *E*).

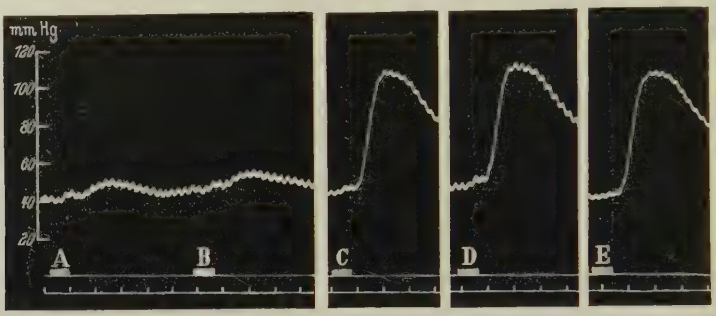


Abb. 7. Katze, 1,9 kg. In Äthernarkose dekapitiert. Blutdruckregistrierung mit Quecksilbermanometer aus der Art. fem. Zeitschreibung: 10 Sek. Alle Injektionen intravenös. Sympatoltartratlösung 1:5000. Die Bestrahlung wurde in Uviolglasprouvetten vorgenommen. *A*: 400 γ Sympatol unbestrahlt. *B*: 400 γ Sympatol unter Sauerstoffabschluß in Stickstoffatmosphäre 150 Min. bestrahlt. Beachte in *C* die Wirkungszunahme derselben Sympatolmenge, die 150 Min. bei Luftzutritt bestrahlt wurde. *D*: 400 γ Sympatol nach vorangegangener Sauerstoffdurchperlung ebenfalls 150 Min. bei Luftzutritt bestrahlt. Zum Vergleich siehe in *E* die Drucksteigerung von 15 γ Adrenalin.

III. Besprechung der Ergebnisse.

A. Adrenalin.

Aus den mitgeteilten Versuchen geht hervor, daß die Wirkung von Adrenalin auf den Blutdruck durch UVB bedeutend abgeschwächt, ja sogar bei genügend langer Einwirkung völlig aufgehoben wird. Mit dieser Einbuße an Blutdruckwirksamkeit fanden wir gleichlaufend eine Abschwächung der Fluoreszenz-Reaktion. Es handelt sich offenbar um eine Zerstörung des Adrenalins unter der Einwirkung von Ultraviolettlicht. Je konzentrierter die Adrenalinlösung ist, um so länger muß sie bestrahlt werden, bis die Blutdruckwirkung völlig verschwunden ist.

Sehr verdünnte Lösungen verlieren durch die UVB schon viel früher ihre pressorische Wirksamkeit.

Beachtlich ist, daß die Zerstörung des Adrenalins durch UVB auch bei Sauerstoffabschluß erfolgt. Allerdings vollzieht sich in Gegenwart von Sauerstoff die Umwandlung von Adrenalin in pressorisch unwirksame Körper rascher als in Stickstoffatmosphäre.

Hervorzuheben ist ferner, daß in keinem Fall, auch nicht nach kurzen Bestrahlungszeiten von 1—10 Minuten, eine Verstärkung der Adrenalinwirkung durch Ultraviolettlicht festzustellen war; stets wurde eine Wirkungsabnahme beobachtet. Wir können daher die Versuche von Terata und Mitarbeiter[1–4], die eine Zunahme der Adrenalinwirkung nach UVB fanden, nicht bestätigen. Vielleicht haben die Autoren zu ihren Versuchen

Adrenalinlösungen verwendet, denen Substanzen beigemengt waren, die durch UVB in pressorisch wirksamere Körper überführt wurden.

Auch fanden wir nie durch ultraviolettbestrahltes Adrenalin eine Blutdrucksenkung, wie sie Verda und Mitarbeiter[5] beschrieben und auf restliche Spuren von Adrenalin bezogen haben. Sicherlich sind die geringen Adrenalinmengen, die einen Blutdruckabfall verursachen könnten, bei UVB nur innerhalb einer kurzen Zeitspanne in der Lösung vorhanden; bei fortgesetzter Bestrahlung fallen sie der Zerstörung anheim. Vielleicht entging uns die Blutdrucksenkung bestrahlter Adrenalinlösungen, weil die Entnahme unserer Proben nicht in die entsprechende Zeitspanne fiel.

In diesem Zusammenhang soll noch erwähnt werden, daß in jüngster Zeit von Heirman[10] und Bacq[11] ein blutdrucksenkender Körper „Adrenoxin" gefunden wurde, der bei Einwirken von Katecholoxydase und Tyrosinase aus Adrenalinlösungen vorübergehend entstehen soll. Wenn auch die Möglichkeit besteht, daß ein nur vorübergehend in der bestrahlten Lösung auftretender Körper in unseren Versuchen dem Nachweis entging, so ist doch auch in Betracht zu ziehen, daß durch Einwirken der genannten Fermente aus Adrenalin andere Zwischen- und Endprodukte entstehen können als durch UVB.

B. Sympatol.

Sympatol gewinnt im Gegensatz zu Adrenalin durch UVB an pressorischer Wirksamkeit. Diese Zunahme beruht auf dem Entstehen eines stark blutdruckwirksamen Körpers, der nach unseren Untersuchungen als Adrenalin anzusprechen ist. Die Wirkung auf den Blutdruck, die „Umkehrreaktion" nach Ergotamin, der Effekt an der Nickhaut der Katze, der Ausfall der Fluoreszenzprobe und schließlich noch die Ergebnisse der kolorimetrischen Adrenalinbestimmung rechtfertigen diesen Schluß. Da aber UVB Adrenalin zerstört, war zu fordern, daß bei fortgesetzter Bestrahlung die starke Blutdruckwirkung vermindert und schließlich aufgehoben werde. Auch diese Bedingung wurde erfüllt. Wir haben demnach bei der UVB von Sympatol mit zwei Vorgängen zu rechnen: einerseits die Umwandlung von Sympatol in Adrenalin, andererseits die Zerstörung des neugebildeten Adrenalins.

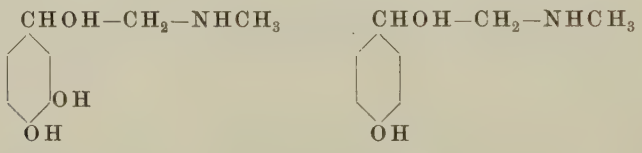
Das Auftreten von Adrenalin in einer bestrahlten Sympatollösung setzt dabei notwendig voraus, daß seine Zerstörung langsamer vor sich geht als die Bildung aus Sympatol. Die Entstehung von Adrenalin ist selbstverständlich nur so lange möglich, als genügend Sympatol zur Verfügung steht; wenn der Sympatolvorrat bis zu einem gewissen Grad erschöpft ist und damit der Nachschub von Adrenalin unmöglich wird, be-

[10] Heirman, P.: C. r. Soc. Biol. **126**, 1264 (1937). — [11] Bacq, Z. M.: J. Physiol. (Brit.) **92**, 28 P. (1938).

ginnt die Zerstörung von Adrenalin zu überwiegen. In diesem Zeitpunkt der UVB hat die Blutdruckwirksamkeit der bestrahlten Lösung den Höhepunkt schon überschritten.

Der Höchstwert von Adrenalin in den bestrahlten Lösungen beträgt etwa 8—10% des ursprünglich vorhandenen Sympatols. Je nach der Konzentration der Sympatollösung ändert sich der Zeitpunkt, in dem das Maximum von Adrenalin nachweisbar ist. Bei einer Lösung von Sympatoltartrat 1:5000 ist dies nach etwa 90 Minuten der Fall; in verdünnteren Lösungen wird der Gipfel schon früher erreicht. Konzentrierte Lösungen, z. B. 1 : 1000, müssen viel länger, über 24 Stunden, bestrahlt werden, um die Höchstmenge an Adrenalin zu liefern.

Die Umwandlung von Sympatol in Adrenalin erfolgte nur bei Gegenwart von Sauerstoff; in reiner Stickstoffatmosphäre war die UVB wirkungslos. Diese Tatsache läßt den Schluß zu, daß es sich um einen oxydativen Vorgang handelt. Wie der Vergleich der Formelbilder von Adrenalin und Sympatol



Adrenalin, Sympatol

ergibt, muß eine OH-Gruppe an den Phenolkern des Sympatols angelagert werden, um diese Umwandlung zu vollziehen. Ähnliche oxydative Umsetzungen unter dem Einfluß von UVB sind aus der Literatur bekannt. So wurde z. B. die Entstehung von Dopa (Dihydroxyphenylalanin) aus Tyrosinlösungen (Oxyphenylalanin) nachgewiesen[12, 13]. Auch Phenol kann unter Rotfärbung zu Hydrochinon und Brenzkatechin oxydiert werden[14].

Zusammenfassung.

1. Adrenalin verliert durch Ultraviolettbestrahlung (UVB) seine Blutdruckwirkung.

2. Die durch Adrenalin bedingte Fluoreszenz der Lösungen nimmt bei Bestrahlung in gleichem Maße ab wie die Blutdruckwirkung.

3. Adrenalinlösungen werden während der UVB zunächst rötlich, dann rötlichgelb und schließlich wieder farblos.

4. Die Zerstörung von Adrenalin durch UVB erfolgt auch bei Sauerstoffausschluß.

---

[12] Arnow, L. E.: J. biol. Chem. (Am.) **120**, 151 (1937). — [13] Arnow, L. E.: Physiol. Chem. **42**, 415 (1938). — [14] Siehe F. Bachér in Abderhaldens Handbuch der biol. Arbeitsmethoden, Abt. I, Teil 2, 2. Hälfte, Bd. 1, S. 1506.

5. Aus Sympatol entsteht bei UVB ein pressorisch hochwirksamer Körper, der sich biologisch und chemisch als Adrenalin erwies.

6. Der Höchstwert von Adrenalin in bestrahlten Sympatollösungen beträgt 8–10% des ursprünglich vorhandenen Sympatols; er wird in konzentrierten Lösungen später erreicht als in verdünnten.

Die im Tierversuch ermittelten Adrenalinwerte stimmen mit den kolorimetrisch gefundenen gut überein.

7. Bei der UVB von Sympatollösungen wird Adrenalin gebildet und zerstört. Anfangs überwiegt die Bildung, später mit zunehmender Erschöpfung des Sympatolvorrats die Zerstörung des Adrenalins.

8. Zur Umwandlung von Sympatol in Adrenalin ist Sauerstoff unerläßlich.

Aus der Medizinischen und Nervenklinik, Gießen.
(Direktor: Prof. H. Reinwein.)

Zur Frage der Tachyphylaxie*.

Von

Hans-Georg Rietschel.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. Juli 1939.)

Tachyphylaxie ist ein Begriff der Kreislaufphysiologie und bedeutet Abschwächung oder Umkehrung gewisser biologischer Reaktionen bei wiederholter Anwendung bestimmter Arzneimittel. Die Reaktion, z. B. Blutdrucksteigerung, muß erst voll abgeklungen und ausgeglichen sein, ehe die gleiche pharmakologische Substanz zum zweiten Male appliziert werden darf, die dann zu einer Abschwächung oder Umkehrung der Reaktion, also Blutdrucksenkung führt. Eine tachyphylaktische Reaktion kann nur dann zustande kommen, wenn bei einem pharmakologischen Reiz noch wirksame Substanz des betreffenden Arzneimittels von einer ersten Darreichung her im Organismus vorhanden ist. Ist die Substanz vollständig im Körper zerstört oder ausgeschieden, dann ist bei erneuter Gabe des Mittels jede tachyphylaktische Reaktion ausgeschlossen.

Nur einige, ganz bestimmte Arzneimittel gelten als tachyphylaktische Substanzen. Es können nach dem eben Gesagten nur solche sein, die lange im Körper verbleiben und nur langsam zerstört werden. Aber nicht jedes solches Pharmakon ist eine tachyphylaktische Substanz. Ephedrin, Ephetonin, Tyramin, Hypophysin und auch Veritol sind die wichtigsten Stoffe, die, wenn auch nicht gleichermaßen, zur Tachyphylaxie führen. Der Grad der Tachyphylaxiebereitschaft unter ihnen ist durchaus verschieden und hängt von allerlei Umständen ab.

Das Phänomen der Tachyphylaxie ist durch folgenden Grundversuch gekennzeichnet: Injiziert man einer Katze in Numalnarkose (0,5 ccm/kg) 2 mg/kg Ephedrin intravenös, so resultiert eine deutliche Blutdruck-

* Das Wort Tachyphylaxie wurde von Champy u. Gley (1) 1911 geprägt und bedeutete in seiner ursprünglichen Sinngebung soviel wie Immunität. Die Autoren vergifteten Kaninchen mit großen Mengen von Corpus luteum Hormon der Kuh. Sie beobachteten dabei ein schweres Krankheitsbild mit Konvulsionen, Somnolenz usw., dem ein hoher Prozentsatz der Tiere erlag. Wurden die Erscheinungen überstanden, so konnte gelber Körper in beliebigen Mengen reinjiziert werden, ohne daß die Versuchstiere irgendwelche krankhaften Veränderungen zeigten. Diesen raschen Schutz gegen eine Substanz, die erst eingegeben als Gift gewirkt hatte, nannten sie Tachyphylaxie. Die Bezeichnung „Tachyphylaxie" (Schnell-Empfindlichkeit) trifft nun keineswegs das Wesen jenes eben beschriebenen Phänomens. Offensichtlich handelt es sich um einen Immunitätsvorgang, der richtiger „schnell unempfindlich" genannt worden wäre.

steigerung. Nach einiger Zeit (etwa 30 Minuten) ist die pressorische Wirkung wieder voll ausgeglichen, eine zweite gleiche Dosis führt nunmehr zwar noch zu einer Drucksteigerung, doch ist diese gegenüber der ersten deutlich vermindert. (Etwa nur halb so hoch.) Wartet man wiederum bis zum Druckausgleich und appliziert ein drittes Mal dieselbe Menge des gleichen Stoffes, so erfolgt in der Regel ein Blutdruckabfall.

Für das Zustandekommen einer Tachyphylaxie wurden die verschiedensten Erklärungsmöglichkeiten angenommen. Schaumann (2) spricht von einem erhöhten Spannungszustand der Gefäße, der die allgemeine, in der Blutdrucksteigerung sichtbar werdende Kreislaufwirkung noch überdauert. Obwohl der Blutdruck infolge kompensatorischer Regulationen bereits zur Norm zurückgekehrt ist, dauert die statische Wirkung an den Gefäßen noch an. Diese Deutung ist von einer großen Reihe von Autoren übernommen worden. [Geiling und Campbell (3), Larson (4), Eichler (5), usw.] Andere sehen das Wesen der Tachyphylaxie in einer allmählichen Schädigung des Herzens. [Chen und Schmidt (6), Chen (7), Mügge (8)]. Takacs (9) betont die Sympathicus- und Parasympathicuswirkung tachyphylaktischer Substanzen und glaubt an ein Überwiegen der Parasympathicuswirkung nach wiederholten Dosen.

So zahlreich die Versuche zur Erklärung des Phänomens, so widersprechend sind auch die Ergebnisse über die Regelmäßigkeit, mit der es zu einer Tachyphylaxie kommt. Keineswegs in jedem Fall tritt jene erwähnte Abschwächung oder Umkehrung einer Blutdrucksteigerung ein, manche Autoren haben sie sogar regelmäßig vermißt [Tainter(10)]. In ausgedehnten Untersuchungen hat man nachweisen können, daß Dosis des angewandten Mittels, Allgemeinzustand, Narkose des Tieres und vieles andere für das Problem der Tachyphylaxie ausschlaggebend sind. Eine Deutung des Phänomens und Erklärung des Zustandekommens der Umkehrreaktion ist bisher nicht gelungen. Vorliegende Arbeit hatte den Zweck, einen Beitrag zu dieser Frage zu leisten.

I.

Alle Versuche (im ganzen 51) wurden regelmäßig an Katzen in Numalnarkose 0,6 ccm/kg vorgenommen. Registrierung des Blutdrucks an der Carotis durch ein Quecksilbermanometer. Gebrauch der Trendelenburgschen Apparatur zur Verhinderung der Gerinnung. Injektion der zu untersuchenden Substanzen regelmäßig in die vena femoralis. Es wurde, soweit nicht besonders erwähnt, ausschließlich mit Ephedrin* und Veritol gearbeitet.

Das oben beschriebene einfache Experiment der Umkehrung einer Blutdrucksteigerung in eine Blutdrucksenkung nach mehrmaliger Darreichung von Ephedrin z. B. tritt nicht regelmäßig in dieser klassischen Form auf. Eine Reihe von Umständen können die Tachyphylaxiebereitschaft eines Versuchstiers erhöhen, verschlechtern oder gänzlich unmöglich machen.

* Im folgenden ist bei der Tachyphylaxie der Ephedrinsubstanzen (Ephedrin, Ephetonin) immer nur vom Ephedrin die Rede, gleichgültig ob die Versuche mit Ephedrin oder Ephetonin durchgeführt wurden.

Inwieweit dabei die zum Versuch verwendete Tierart eine Rolle spielt, wurde nicht näher untersucht. Nach den Ergebnissen von Chen(11) tritt die Ephedrin-Tachyphylaxie an Hunden, Katzen und Kaninchen auf. An anderen Tierarten als den genannten wurde das Phänomen bisher nicht beobachtet. Da in meinen Versuchen stets mit ein und derselben Tierspezies (Katze) gearbeitet wurde, sind Differenzen der Ergebnisse bezüglich besserer, mangelnder oder fehlender Tachyphylaxiebereitschaft als von der verwendeten Tierart abhängig ausgeschlossen. Es wurde grundsätzlich Wert darauf gelegt, nur gesunde Tiere zum Versuch zu verwenden (kranke und schwangere Tiere wurden von vornherein ausgeschlossen), aber auch bei peinlicher Auswahl derselben wurden zum Teil recht abweichende Resultate gefunden. Während die Mehrzahl der Tiere in der oben geschilderten Weise auf mehrere Injektionen Ephedrin oder Veritol reagierten, blieb bei anderen die Umkehrung der Blutdrucksteigerung in Blutdrucksenkung aus, einzelne antworteten sogar von Anfang an mit einer Drucksenkung.

Art und Tiefe der Narkose sind dabei von entscheidender Bedeutung. Hauschild und Lendle(12) konnten nachweisen, daß je nach dem Grade der Narkosetiefe nach Ephedrin eine Blutdrucksteigerung oder -senkung eintrat. Die Autoren glauben an eine Umstimmung der Erfolgsorgane durch Narkotica im Sinne von Schilf(13). Ähnliches wurde beim ebenfalls tachyphylaktisch wirkenden Tonephin beobachtet. Die Tonephinwirkung kann durch stärkere Narkose abgeschwächt oder aufgehoben werden [Haferkorn und Lendle(14)]. In Chloretonnarkose kommt es nach den Beobachtungen von Laginski und Stehle(15) nach Tonephin regelmäßig zu Drucksteigerungen, in Luminalnarkose zur Senkung. In meinen eigenen Versuchen wurde stets an ein- und derselben Tierart in der gleichen Narkose (Numal 0,6 ccm/kg intraperitoneal) gearbeitet. Änderungen der Tachyphylaxiebereitschaft müssen zu einem großen Teil auf Art und Tiefe der Narkose zurückgeführt werden. Von der Narkose hängt wiederum der Allgemeinzustand des Versuchstiers und umgekehrt die Narkosetiefe bei äquivalentem Angebot an Narkoticum vom Allgemeinzustand ab, sie bedingen also einander wechselseitig. Eine Reihe anderer Faktoren sind ebenfalls für den Allgemeinzustand des Versuchstiers verantwortlich, in erster Linie der Zustand des Zentralorgans (besonders des Wärmeregulationszentrums), Durchblutung der Organe usw. Es besteht eine enge Verknüpfung des Tonus des vegetativen Nervensystems mit dem Allgemeinzustand derart, daß ein Arzneimittel z. B. Adrenalin oder Ephedrin bei gleicher Dosierung einmal zu einer Blutdrucksteigerung (Sympathicuswirkung), ein andermal zu einer Blutdrucksenkung (Parasympathicuswirkung) führt. Besonders von Rein(16) ist mit allem Nachdruck darauf hingewiesen worden, daß nicht die Substanz als solche, sondern die jeweilige Reaktionslage des Tieres für den Ausfall einer biologischen Reaktion verantwortlich ist. So können alle Kreislaufmittel wie Adrenalin,

Ephedrin, Veritol usw. unter bestimmten Umständen in Dosen, die gewöhnlich eine Blutdrucksteigerung verursachen, zur Blutdrucksenkung führen.

Nicht nur Schädigungen des Versuchstieres, sondern auch ein hohes Ausgangsniveau des Blutdrucks führt bei Darreichung blutdrucksteigernder Stoffe zur Blutdrucksenkung. Steigert man durch besondere Maßnahmen, z. B. Verschluß beider Carotiden den Blutdruck des Hundes künstlich, so wird eine Adrenalininjektion mit einer Blutdrucksenkung beantwortet [Raymond-Hamet (17)].

Nach Klarstellung der Voraussetzungen für das Zustandekommen einer tachyphylaktischen Reaktion, die im tierischen Organismus selbst ihre Ursache haben, soll auf die Bedingungen für die Tachyphylaxie, die im Arzneimittel selbst liegen, näher eingegangen werden. Die tachyphylaktische Reaktion ist qualitativ und quantitativ bei den einzelnen tachyphylaktischen Substanzen verschieden. Ephedrin wirkt in dieser Hinsicht viel besser als Veritol. Unter gleichen Verhältnissen des Versuchstieres wurde in etwa 30 % ein Mangel oder Ausbleiben an tachyphylaktischer Bereitschaft unter Veritol gefunden. Öfters blieb die erwartete Blutdrucksenkung nach mehreren Injektionen ganz aus, oder sie war nur gering vorhanden. Beim Ephedrin ist das viel seltener der Fall. Man kann gewissermaßen eine Reihe nach dem Grad der Tachyphylaxiebereitschaft aufstellen, bei der Ephedrin und seine Verwandten (Ephetonin usw.) den höchsten und ausgeprägtesten Grad, Veritol den geringsten, tachyphylaktisch zu reagieren, aufweisen. Auf Grund dieser Ergebnisse ist es schwierig, Klassifikationen der Kreislaufmittel nach Angriffspunkten (Sympathisch-Parasympathisches Nervensystem: Adrenalingruppe, glatter Muskel: Ephedringruppe) vorzunehmen und eine Substanz einem solchen System einzugliedern.

Dieser verschiedene Grad der Tachyphylaxiebereitschaft von Ephedrin und Veritol hängt aber neben der besonderen Wirkungsweise mit der Ausscheidung aus dem Organismus und Zerstörung zusammen. Eingangs wurde gesagt, daß eine tachyphylaktische Reaktion nur zustande kommen kann, wenn noch unzerstörte Substanz von vorhergehenden Injektionen im Organismus kreist. Die Schnelligkeit des Substanzabbaus erfolgt bei Veritol rascher als bei Ephedrin. Unter Veritol erlangt der Körper oft schon nach 2 Stunden wieder seine ursprüngliche Reaktionsfähigkeit, unter Ephedrin meist erst nach 6—8 Stunden. Es ist, worauf Eichler[5] auch schon hingewiesen hat, sehr mühevoll festzustellen, wann der Organismus soweit von Substanz gereinigt ist, daß die Reaktionen wieder normal ablaufen. In einzelnen Versuchen unter Veritol war dies nach vielen Stunden noch nicht der Fall. Es muß dahingestellt bleiben, ob durch die Länge des Versuchs nicht eine allmähliche Schädigung des Versuchstieres eingetreten war, die für die Umkehrreaktionen verantwortlich gemacht werden mußte.

Von Eichler (5) wurde darauf hingewiesen, daß auf eine erste blutdrucksteigernde Dosis von Ephedrin hin, Veritol nicht mehr pressorisch wirkt, mit einer tachyphylaktischen Substanz also eine Tachyphylaxie für einen anderen, auch tachyphylaktischen Stoff, erzeugt werden kann. In zahlreichen eigenen Versuchen bei verschiedenster Dosierung wurde dieser Befund bestätigt und gleichzeitig gefunden, daß auch umgekehrt nach Veritol Ephedrin nicht mehr blutdrucksteigernd wirkt. Es besteht also eine Art von Austauschmechanismus, Veritol kann beliebig durch Ephedrin ersetzt werden und umgekehrt. Die biologische Abschwächung oder Umkehr der Reaktion tritt auch dann regelmäßig und genau so wie bei Tachyphylaxieversuchen mit einer Substanz auf.

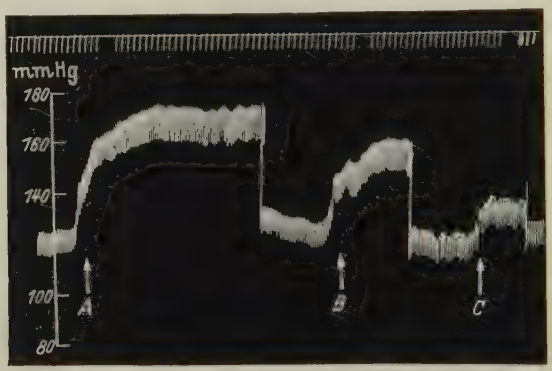


Abb. 1. Katze, 2300 g. Bei ▲ je 0,2 mg/kg Veritol. Zwischen jeder Injektion 30 Min. Pause. Zeitzeichen: 15 Sekunden.

Werden unterschwellige Dosen von Ephedrin (0,05—0,1 mg/kg) oder Veritol appliziert, so kann man öfters, beinahe beliebig oft den gleichen oder höchstens nur gering abgeschwächten pressorischen Effekt wiederholen. In anderen Fällen gelingt es allerdings nicht, nach mehrmaligen Injektionen die Tachyphylaxie zu verhindern. Auch hier wirkt der Tonus des sympathisch-parasympathischen Nervensystems bestimmend auf den Ablauf der biologischen Reaktion. Kleine bis mittlere Dosen von Ephedrin und Veritol wirken bekanntlich Sympathicus stimulierend, größere und ganz große Vagus reizend. Das Ausbleiben einer Tachyphylaxie unter ganz kleinen Dosen würde sich also mühelos als stets neuer Sympathicusreiz erklären lassen. Erst wenn die Sympathicusendigungen durch mehrere Dosen abgesättigt bzw. erschöpft sind, oder eine größere Menge auf einmal dem Körper angeboten wird, überwiegt die Vagusreizung. Sobald mehrere Injektionen von Veritol oder Ephedrin hintereinander gegeben werden, und noch genügend unzerstörte Substanz von vorher im Körper vorhanden ist, wird jede neue Dosis in ihrer Wirkung zu der alten addiert (Summation). Nach etwa drei bis vier Injektionen wäre eine solche Menge an Stoff im

Körper, daß nunmehr eine Umkehr der biologischen Reaktion erwartet werden müßte. Tachyphylaxie wäre also demnach nichts anderes, als die parasympathische Reaktion des Organismus auf die Einwirkung einer größeren Menge Substanz als aufgestapelte Summe mehrerer kleiner Dosen hin. Gegen diese Vorstellung spricht die Tatsache, daß bei einer erstmaligen Injektion von Ephedrin eine erhebliche Menge (etwa 40—60 mg/kg) notwendig ist, um von Anfang an eine Senkung zu erzielen. Dagegen kommt es fast regelmäßig nach einer dreimaligen Injektion von je 0,5 mg/kg Ephedrin zur Tachyphylaxie, d. h. zur Blutdrucksenkung. Eine Erklärung des tachyphylaktischen Phänomens als Summationseffekt mehrerer kleiner Dosen im Sinne einer großen als Parasympathicuswirkung ist also ausgeschlossen.

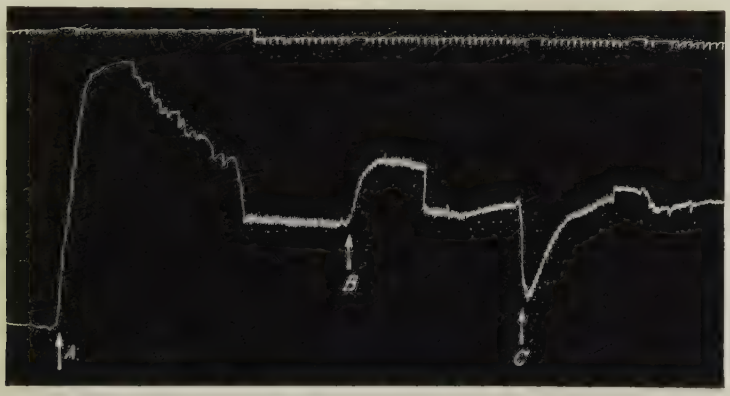


Abb. 2. Katze, 3500 g. *A* = 0,5 mg Ephetonin. *B* = 0,5 mg Ephetonin. *C* = 0,5 mg Veritol. Zeitzeichen: 15 Sekunden.

Das tachyphylaktische Phänomen ist, wie wir gesehen haben, veränderlich. Bedingungen, die im Versuchstier selbst liegen, wie Tierspecies, Allgemeinzustand, Narkose oder Einwirkungen vom Arzneimittel aus (Art der pharmakologischen Substanz, Dosierung) können es entscheidend beeinflussen. Aber auch bei Berücksichtigung aller dieser Faktoren bleiben Fälle, in denen die Tachyphylaxie in ihrer klassischen Form nicht auftritt bzw. völlig vermißt wird, ohne daß eine genügende Erklärung dafür gefunden werden könnte (siehe Abb. 2). Es ist sicher, worauf bereits mehrfach hingewiesen wurde, daß das vegetative Nervensystem in solchen Fällen in besonderer Weise reagiert, ohne daß der Allgemeinzustand sichtbar verändert wäre. Es ist nicht möglich, alle Voraussetzungen, sondern nur einen größeren Teil der Bedingungen für das Zustandekommen und den Ablauf des Phänomens aufzuzeigen. Dieser ist durch die jeweilige Reaktionslage des sympathisch-parasympathischen Nervensystems bedingt.

Es will scheinen, als ob unter der Einwirkung von noch unzerstörter Substanz (Ephedrin oder Veritol) eine Art Umstimmung im vegetativen

Nervensystem vor sich ginge, die bei einer folgenden Injektion des betreffenden, oder eines anderen tachyphylaktischen Arzneimittels zu einer Sensibilisierung des Parasympathicus bzw. teilweisen oder völligen Lähmung des Sympathicus führt. Auf diese Theorie soll später näher eingegangen werden.

Damit rückt die Möglichkeit, durch gewaltsame Änderungen am vegetativen Nervensystem das Phänomen der Tachyphylaxie zu verändern oder womöglich zu verhindern, in den Kreis der Betrachtung. Bevor auf diese Frage näher eingegangen wird, soll versucht werden, aus dem Einzelstudium derjenigen Komponenten, die eine Blutdrucksteigerung verursachen, einen Einblick in das tachyphylaktische Phänomen zu gewinnen und vielleicht eine Klärung seines Wesens herbeizuführen.

II.

Für das Zustandekommen einer Blutdrucksteigerung sind zentrale Einflüsse, Zunahme der Herzleistung, Mobilisierung von Depotblut und Erhöhung des peripheren Widerstands verantwortlich.

Die Tachyphylaxie tritt an nicht dekapitierten und dekapitierten Tieren gleichermaßen auf. Zentrale Einflüsse spielen also keine ausschlaggebende Rolle für den Ablauf des Phänomens. Damit soll jedes Fehlen einer Bedeutung der Zentralorgane nicht geleugnet werden, das Intaktsein des Cerebrums ist für das Auftreten des Phänomens aber nicht notwendig. Auch Vagusdurchschneidung beeinflußt den Tachyphylaxieeffekt grundsätzlich nicht, zwar wird der Blutdruck auf ein höheres Niveau eingestellt, wodurch die Gegenregulationen, die zu einer Blutdrucksenkung führen, leichter in Gang kommen. Exstirpation beider Nebennieren ist für den Ablauf der Tachyphylaxiereaktion ohne jede Bedeutung, soweit wieder nicht wesentliche Änderungen der Blutdruckhöhe im Zusammenhang mit der operativen Entfernung der Nebennieren auftreten, die ihrerseits einen besonderen Verlauf der Blutdruckreaktion bedingen.

Einige Autoren sehen das Wesen der Tachyphylaxie in einem allmählichen Nachlassen der Herzleistung [Mügge (8)]. Zur Klärung dieser Frage waren Experimente am isolierten Herzen notwendig, das Starling Herzlungenpräparat erwies sich hierfür als geeignet. Es wurden einige Versuche durchgeführt (4), die ergaben, daß am suffizienten Herzen nach einer kleinen Dosis Veritol oder Ephedrin geringe Zunahmen des Minutenvolumens auftreten, wobei die Schlagzahl nur wenig ansteigt. Das Verhalten des Herzens unter Veritol ist in schöner und klarer Weise von Rein (16) beschrieben worden. Auf eine zweite gleichgroße Dosis Veritol oder Ephedrin nach 15 Minuten wurde in zwei meiner Versuche keine Wirkung am Herzen beobachtet. In einem Versuch kam es zu einem Absinken des Blutdrucks, nachdem die erste Dosis gering drucksteigernd gewirkt hatte. Möglicherweise bestand zu Beginn des Versuchs eine geringe latente Insuffizienz des Herzens — obwohl Rein (16) auf die primäre

Wirkung des Veritols, Kiese, Garan und Krautwald (18) auf die des Ephedrins am voll suffizient arbeitenden Herzen hingewiesen haben —, die durch Veritol oder Ephedrin behoben wurde. Diese Substanzen, ein zweitesmal gegeben, wirken bei einem optimal arbeitenden Herzen nicht mehr. Das hat aber, worauf auch Rein mit Nachdruck hinweist, nichts mit Tachyphylaxie zu tun. Wir sprechen nur dann von Tachyphylaxie, wenn noch eine sichtbare Reaktion auf einen pharmakologischen Reiz hin abläuft, sei es im Sinne einer Abschwächung oder Umkehrung gegenüber der ersten Reaktion, aber niemals dann, wenn jegliche Reaktion unterbleibt*.

Die Versuche zur Tachyphylaxie am Herzen haben zu keiner Klärung des Problems geführt, sie zeigen nur, daß eine Tachyphylaxie auch am Herzen vielleicht möglich ist. Ob eine Herzschädigung hierbei eine Rolle spielt, ist nicht sicher, Versuche von Mügge (8) sprechen in diesem Sinne. Derselbe Autor konnte am Hund mit Hilfe einer sinnreichen Einrichtung beobachten, daß das Herz nach einer zweiten Dosis Ephedrin diastolisch wird, die Leistung abnimmt und der Vorhofdruck ansteigt, während die erste Gabe deutlich herzfördernd gewirkt hatte. Nach den Versuchen von Rein (16) und meinen eigenen ist es demnach nicht angängig, das Phänomen der Tachyphylaxie allein auf eine Herzschädigung zurückzuführen. In jenen Fällen, wo bei wiederholter Injektion ein Nachlassen der Herzleistung eintritt, kann nicht entschieden werden, ob diese Umkehrung auf einer veränderten nervösen Reaktionsbereitschaft (Sympathicus-Parasympathicus) oder einer echten Herzschädigung beruht. Von Stoffwechseluntersuchungen am Herzen, die möglicherweise Einblick in diese Frage hätten geben können, wurde abgesehen.

Tachyphylaxie kann ferner auf einer Unmöglichkeit des Körpers beruhen, Depotblut zu entspeichern und bereitzustellen. Vor allem Rein (16) denkt an einen solchen Vorgang, wenn er von „mangelnden Voraussetzungen für einen Blutdruckanstieg bei einer zweiten Injektion" spricht, da eine Wiederauffüllung der Milz bzw. Erschlaffung der Gefäße noch nicht erfolgt sei. Mit Hilfe onkometrischer Messungen an der Milz konnte ich nachweisen, daß im allgemeinen ein Blutdruckeffekt im Sinne einer Steigerung nur bei Entleerung der Blutspeicher eintritt. Kommt es zur tachyphylaktischen Reaktion, so sieht man neben der Blutdrucksenkung ein mehr oder minder starkes Ansteigen, zuweilen auch Gleichbleiben des Milzvolumens. Die Entleerung der Blutdepots unterbleibt also und als Ausdruck der Umkehrreaktion füllt sich die Milz auf oder läßt praktisch jeglichen Effekt vermissen. In anderen Versuchen wurden recht erhebliche Blutdruck-

* Theoretisch kann einmal die Abschwächung quantitativ so ausfallen, daß der Blutdruck bei einer tachyphylaktischen Reaktion überhaupt keine Veränderung zeigt. Das kommt ab und zu vor. Gewöhnlich bedeutet aber ein Unterbleiben jeder Antwort auf einen pharmakologischen Reiz, daß die Angriffspunkte für die fremde Substanz nicht ansprechbar sind (Unempfindlichkeit).

steigerungen auch ohne Entspeicherung der Milz gefunden. Solche Ergebnisse wurden sowohl bei der Untersuchung von Ephedrin, wie von Veritol festgestellt. Die Blutdrucksteigerung ist also auch beim Veritol keineswegs abhängig von der Depotentleerung, es sei denn, andere Depots als die Milz (Leber usw.) sorgen für ein vermehrtes Blutangebot, das von der Milz nicht mehr geleistet wird. Ausschlaggebend für eine Depotentleerung der Milz ist der Umstand, daß sie nach einem ersten pharmakologischen Reiz wieder genügend mit Blut aufgefüllt ist. Läßt man ihr diese Zeit der Wiederauffüllung nicht, so fehlen die Voraussetzungen für eine Entleerung. Und trotzdem kommt es auch dann zu Blutdrucksteigerungen. Besonders eindrucksvoll ist ein Versuch mit Adrenalin, in dem

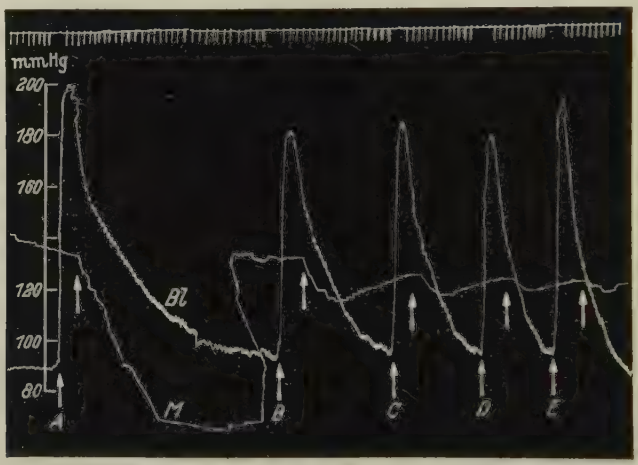


Abb. 3. Katze, 2000 g. *Bl* = Blutdruck. M = Milzvolumen. *A* = 1 ccm Suprarenin 1:500000. *B* — *E* desgleichen. Zeitzeichen: 15 Sekunden.

gehäufte, immer gleiche Adrenalindosen verabreicht wurden, wobei Blutdruck und Milzvolumen kurvenmäßig registriert wurden. Es kam stets zu ungefähr gleichgroßen Blutdrucksteigerungen, obwohl die Milz mit einer immer geringeren Volumenverkleinerung auf den pharmakologischen Reiz antwortete, bis sie zuletzt gar nicht mehr reagierte (s. Abb. 3). Dabei tritt sicherlich eine Wiederauffüllung der Milz bei dem rasch wirkenden und schnell zerstörten Adrenalin ungleich viel früher ein als bei Ephedrin und Veritol, die wesentlich langsamer im Körper abgebaut werden. Dem Einwand, daß die Adrenalinblutdrucksteigerung hauptsächlich durch Erhöhung des peripheren Widerstands zustande kommt, kann entgegnet werden, daß unter Veritol, bei dem die Speicherentleerung das wesentliche Moment für den pressorischen Effekt darstellt, bei mangelnder Bereitstellung von Blut, höchstens eine Abschwächung oder Aufhebung des Blutdruckeffektes, niemals aber eine Umkehrung der Blutdruckreaktion auftreten dürfte. Für

die Klärung der Frage der Tachyphylaxie spielt also die mangelnde oder nachlassende Entspeicherung der Blutdepots keine Rolle.

Andererseits führt aber keineswegs jede Mobilisierung von Depotblut unbedingt zu einer Blutdrucksteigerung. Unter bestimmten Umständen, z. B. nach unterschwelligen Dosen von Veritol bleibt die Blutdrucksteigerung aus, obwohl die Milz kräftig entleert wird (s. Abb. 4). Eine Herzschädigung ist sehr unwahrscheinlich, da in dem gleichen Versuch nach einiger Zeit mit einer höheren Dosis Veritol eine Blutdrucksteigerung erzielt wurde. Diese Beobachtung, die ich unter meinen Versuchen öfters machen konnte, lehrt die weitgehende Unabhängigkeit der Blutdruckreaktion von der Depotentleerung. Die Entspeicherung der Blutdepots ist eben nur ein Faktor unter vielen, die für die Blutdrucksteigerung verantwortlich sind. Blutdrucksteigerung kann ohne Entleerung der Milz, Blutdrucksenkung trotz Entleerung der Milz auftreten. Tachyphylaxie ist also ein Kreislaufphänomen, das mit einer mangelhaften Bereitstellung von Blut aus den Speicherorganen nichts zu tun hat.

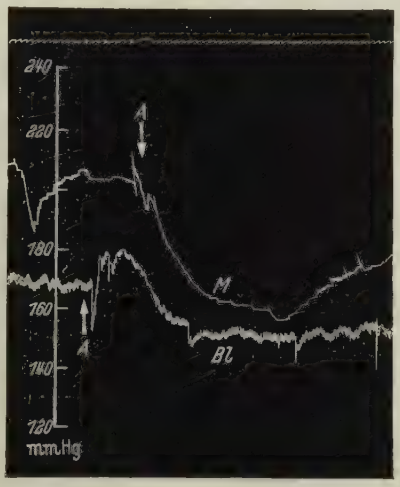


Abb. 4. Katze, 3400 g. *Bl.* = Blutdruck. *M* = Milzvolumen. *A* = 0,05 mg/kg Veritol. Zeitschreibung: 15 Sekunden.

Die bisherigen Beobachtungen lehren, daß gewaltsame Änderungen im Tonus des Vasomotorenzentrums durch Dekapitieren, also Ausschaltung der Einflüsse vom Zentralnervensystem, Nachlassen der Herzleistung oder Minderbereitstellung von Blut aus den Speicherorganen das tachyphylaktische Phänomen nicht zu erklären vermögen. Als weiteres Moment der Blutdruckregulierung wurde die Höhe des peripheren Widerstands genannt. Der periphere Widerstand ist vom Tonus des sympathisch-parasympathischen Nervensystems abhängig und wird weitgehend durch diesen bestimmt. Die möglicherweise bestehenden Beziehungen der Tachyphylaxie zum vegetativen Nervensystem wurden in dieser Arbeit bereits einigemal berührt. Durch Versuche der Blockierung einzelner Teile des vegetativen Nervensystems konnte der Zusammenhang mit der Tachyphylaxie erwiesen werden. Zur Prüfung dieser Frage wurde eine große Reihe von Experimenten nach Vorbehandlung des Versuchstiers mit verschiedenen, in den Mechanismus des vegetativen Nervensystems eingreifenden Substanzen vorgenommen. Hierzu sind in erster Linie Ergotamin, Cocain und Atropin geeignet.

Ergotamin.

Das Verhalten einiger kreislaufwirksamer Substanzen am Blutdruck unter Ergotamin ist genügend bekannt. Die Adrenalinblutdrucksteigerung wird unter Ergotamin in eine Blutdrucksenkung umgekehrt, während die Wirkung des Ephedrins verschieden sein kann. Überwiegend wurde keine Beeinflussung der blutdrucksteigernden Wirkung des Ephedrins gefunden. [Kreitmair (19), Raymond-Hamet (20), Tainter (21), Nagel (22), Pak (23)].

Pak und Nagel fanden allerdings öfters eine geringe Abschwächung des Blutdrucks, die von den übrigen Autoren nicht beobachtet wurde. Im Gegensatz zu diesen Befunden konnte Curtis (24) eine Umkehrung der Blutdruckwirkung nach Vorbehandlung des Versuchstiers mit genügenden Dosen Ergotamin beobachten.

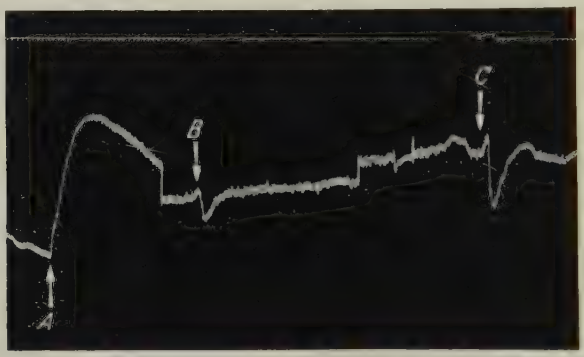


Abb. 5. Katze, 2400 g. Vor dem Versuch 0,5 mg Ergotamin. A = 0,2 mg/kg Veritol. B = desgl. C = 0,5 mg/kg Veritol. Zeitzeichen: 15 Sekunden.

Allerdings ist gegenüber diesen Versuchen, deren Ergebnisse allein dastehen, einzuwenden, ob die verwendeten Ergotamin- und Ephedrindosen nicht so hoch waren, daß eine Schädigung des Versuchstiers eintrat. Zudem wirken größere Dosen von Ephedrin parasympathisch erregend. Einen klaren Einwand gegen die Curtisschen Ergebnisse konnte Schübel (25) erbringen, indem er an Katzen durch Vorbehandlung mit Ergotamin eine Adrenalinblutdrucksenkung herbeiführte. Nach einer einzigen mittleren Dosis Ephetonin, die zu einer Blutdrucksteigerung führte, kam es bei den nun folgenden Adrenalininjektionen trotz Fortbestehens der Ergotaminwirkung stets zu Blutdrucksteigerungen.

Das Verhalten des Veritols unter Ergotamin wurde bisher nicht untersucht. Nach meinen Versuchen wird die blutdrucksteigernde Wirkung des Veritols (0,1—1 mg/kg) nach Ergotamin (0,25 mg/kg) nicht beeinflußt. Das Veritol verhält sich grundsätzlich hierbei ähnlich wie das Ephedrin.

Das tachyphylaktische Phänomen tritt unter dem Einfluß von Ergotamin meist in seiner klassischen Form auf. Auf eine erste Dosis von Veritol z. B. kommt es zu einer Blutdrucksteigerung, nach Abklingen der Reaktion ist die Blutdrucksteigerung bei Wiederholung der gleichen Dosis Veritol stark abgeschwächt oder es tritt bereits eine Senkung ein. Die dritte In-

jektion führt regelmäßig zur Senkung (s. Abb. 5). Fast alle Versuche ergaben übereinstimmend, daß die Tachyphylaxiebereitschaft des Organismus unter Ergotamin erhöht ist, daß also die Umkehreffekte der Blutdrucksteigerung in Senkung leichter und rascher einsetzen als ohne Sensibilisierung durch Ergotamin. Diese Feststellung wird durch zwei Tatsachen der Ergotaminwirkung verständlich. Ergotamin besitzt einen sympathicuslähmenden und einen erregenden Einfluß auf die glatte Muskulatur. Durch erstere Komponente müßte an sich schon die Parasympathicuswirkung überwiegen, sie wird aber oft durch die zweite Wirkung, die Erregung der glatten Muskulatur überdeckt, die ihrerseits eine Blutdrucksteigerung hervorruft. Zur Erklärung der rasch einsetzenden Umkehrwirkung unter Ergotamin sei an die Vorstellungen von Schaumann (2) erinnert, der das ganze Problem der Tachyphylaxie als „statische Wirkung" an der glatten Gefäßmuskulatur erklärt. Unter Ergotamin wird die Belastung an der glatten Muskulatur zusätzlich erhöht, wodurch eine rascher einsetzende Umkehrwirkung im Sinne von Schaumann verständlich würde.

Cocain und Atropin.

Cocain ist als Sensibilisator der Adrenalinwirkung bekannt. Im Gegensatz zum Adrenalin wird die Ephedrinblutdrucksteigerung durch Cocain deutlich abgeschwächt, nach De Eds (26) wird sie sogar völlig aufgehoben. [Swanson (27), Tainter (28), Raymond-Hamet (20), Pak (23)]. K. K. Chen (29) betont allerdings, daß die Ephedrinblutdrucksteigerung auch unter Cocain voll und ganz erhalten bleibt. Zur Erklärung der Befunde von De Eds (26) führt er das tachyphylaktische Moment ins Feld, wobei er allerdings den Beweis für die Blutdrucksenkung bei der ersten Injektion schuldig bleiben muß. In Übereinstimmung mit Chen (29) habe ich in meinen eigenen Untersuchungen stets nach Vorbehandlung mit größeren Dosen Cocain (10—20 mg/kg), die immer zu einer mächtigen Adrenalinblutdrucksteigerung führten, eine Blutdrucksteigerung durch Ephedrin gefunden. Diese konnte unabhängig von der Dosis gleichgroß oder abgeschwächt sein. Eine Blutdrucksenkung habe ich nie beobachtet.

Schon Gruber (30) konnte nachweisen, daß unter Cocain keine Tachyphylaxie des Darms nach mehreren Injektionen Ephedrin auftritt. Unter verschiedenster Dosierung (0,1—2 mg/kg) fand ich bei wiederholter Injektion von Veritol und Ephedrin stets eine Blutdrucksteigerung, nachdem das Versuchstier mit 10—20 mg/kg Cocain sensibilisiert war. Statt der Blutdrucksenkung, die sonst etwa bei der dritten Darreichung einer der Substanzen auftritt, kam es wieder zu einer Drucksteigerung, die zwar gegenüber der ersten abgeschwächt, aber deutlich ausgeprägt war. Jede weitere Injektion führte immer wieder zu Blutdrucksteigerungen. Veritol und Ephedrin konnten beinahe beliebig oft gegeben werden, ohne daß es nur einmal zu einer Umkehrreaktion, also zur Drucksenkung kam. Durch

die Versuchsanordnung der Sensibilisierung mit Cocain war zum erstenmal das Gesetz der Tachyphylaxie durchbrochen, womit der Beweis der Steuerbarkeit des Phänomens erbracht war.

Den gleichen Effekt wie mit Cocain erzielt man mit Atropin. Auch Atropin verhindert das Auftreten der Tachyphylaxie vollkommen und verursacht bei wiederholten Gaben von Ephedrin und Veritol Blutdrucksteigerung. Zur Sensibilisierung des Versuchstiers wurden Dosen von 2—4 mg Atropin. sulf. pro Tier verwendet, es sind also recht erhebliche Mengen von Atropin und Cocain notwendig, um das Phänomen der Tachyphylaxie zu unterdrücken. Um mich von der unvermindert anhaltenden Blutdrucksteigerung unter Atropin nach mehreren Dosen von Veritol z. B.

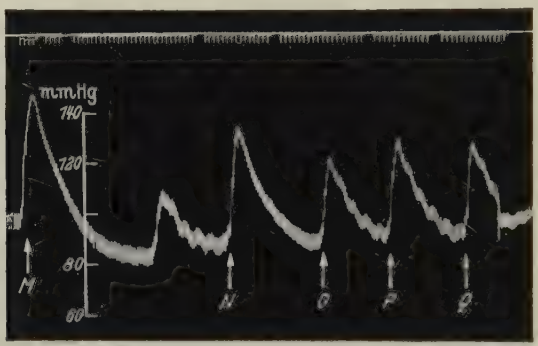


Abb. 6. Katze, 2300 g. Vor dem Versuch 2 mg Atropin, beide Vagi durchschnitten. M = 0,2 mg/kg Veritol. M war die 19. Injektion von Veritol bzw. Ephedrin. $N-Q$ desgl. Zeitzeichen: 15 Sekunden.

zu überzeugen, habe ich in einem Versuch in Abständen von etwa 15 Minuten 24mal Veritol oder Ephedrin in verschiedener Dosierung injiziert und nur etwa gleichhohe Blutdrucksteigerungen erhalten (s. Abb. 6). Genau wie Cocain hebt auch Atropin das Phänomen der Tachyphylaxie auf.

Es fiel auf, daß die Höhe der Blutdrucksteigerung oft nicht von der Menge zugeführter Substanz (Ephedrin, Veritol) abhängt, daß relativ kleine Mengen (0,1 mg/kg) oft erhebliche pressorische Effekte verursachen, 1 mg pro kg aber keine größere Blutdrucksteigerung zu erzielen vermag. Wahrscheinlich wird schon mit relativ niedrigen Dosen ein Optimum der Blutdruckwirkung erreicht, das bei höherer Dosierung durch die einsetzenden Gegenregulationen nicht überschritten werden kann.

Auch bei einem großen Teil meiner Sensibilisierungsversuche mit Cocain und Atropin ergab sich ein bemerkenswerter Unterschied im Ablauf der Blutdruckreaktionen von Ephedrin und Veritol. Die Abschwächung der Blutdrucksteigerung ist fast immer unter Veritol geringer als unter Ephedrin. Es ist der gleiche auffällige Befund, den ich bei meinen Ver-

suchen mit Veritol und Ephedrin allein mitgeteilt habe (s. S. 457). Veritol steht auf Grund seiner besonderen Eigenschaften pharmakologisch dem Adrenalin weit näher als das Ephedrin. Zu diesen besonderen pharmakologischen Eigenschaften einer Substanz gehört auch der jeweilige Grad der Tachyphylaxiebereitschaft.

Durch die Versuche mit einer teilweisen Ausschaltung des sympathisch-parasympathischen Nervensystems durch Ergotamin, Cocain und Atropin konnte der einwandfreie Beweis der Steuerbarkeit des tachyphylaktischen Phänomens erbracht werden. Damit ist der in vorliegender Arbeit bereits öfters vermutete Zusammenhang von Tachyphylaxie und vegetativem Nervensystem gesichert. Ein großer Teil der von anderen Autoren geäußerten Behauptungen, das Tachyphylaxie-Phänomen etwa durch Nachlassen der Herzleistung, durch mangelnde Bereitstellung von Depotblut usw. zu erklären, wird damit hinfällig. Sie alle können einen Faktor in dem größeren Geschehen der Umstellung im vegetativen Nervensystem von Sympathicus- auf Parasympathicuswirkung darstellen, der aber seinerseits auch nichts anderes als Ausdruck dieser Wirkung ist. Es fragt sich nun, ob diese Umstellung im vegetativen Nervensystem die einzige Ursache der Tachyphylaxie ist. Es wäre denkbar, daß die statische Wirkung an der glatten Muskulatur im Sinne von Schaumann (2) auch an der Auslösung des tachyphylaktischen Phänomens beteiligt ist. Nach Sensibilisierung mit Cocain oder Atropin werden unter dem Einfluß von noch unzerstörter Substanz die Blutdruckhöhen abgeschwächt. Eine völlige Unterdrückung des tachyphylaktischen Phänomens ist also nicht möglich. Nach den verschiedenen Feststellungen zahlreicher Autoren [Swanson (27), Tainter (28), Raymond-Hamet (20), Pak (23)] wird aber die Ephedrin-Blutdrucksteigerung gerade durch das Cocain abgeschwächt, was nichts mit Tachyphylaxie zu tun hat. Es besteht also durchaus keine Notwendigkeit, neben der Umstellung im vegetativen Nervensystem nach einer zweiten Möglichkeit der Entstehung des tachyphylaktischen Phänomens zu suchen.

Sei es nun, daß das vegetative Nervensystem allein, sei es, daß dieses und die glatte Muskulatur* für den Mechanismus der Tachyphylaxie verantwortlich sind, muß das Phänomen nicht nur am Kreislauf allein, sondern auch an allen anderen Organen mit vegetativem Nervensystem und glatter Muskulatur vorkommen. Es existieren bereits Beobachtungen über eine Tachyphylaxie am Darm [Gruber (30)], der, wie bereits erwähnt, die

* Es ist kaum möglich, eine absolut scharfe Trennung von Wirkungen am vegetativen Nervensystem und an der glatten Muskulatur vorzunehmen und einen biologischen Vorgang in dieser Weise aufzulösen. Die einstmals so strenge Scheidung von Wirkungen am vegetativen System und solchen an der glatten Muskulatur kann kaum in dieser Form noch aufrechterhalten werden. Damit wird auch die übliche Klassifizierung der Kreislaufmittel in solche, die nur am vegetativen System und solche, die an der glatten Muskulatur angreifen, problematisch. Auch bei der Diskussion über ein Thema, wie das der Tachyphylaxie, ist die biologische Reaktion als Ganzes zu werten.

Tachyphylaxie des Ephedrins ebenfalls durch große Dosen von Cocain unterdrücken konnte. Swanson (27) (31) und Handovsky (32) konnten nachweisen, daß die spasmuslösenden Eigenschaften des Ephedrins an der Bronchialmuskulatur nach mehreren Dosen verlorengehen. Kiese (33) fand in seinen ausgedehnten Versuchen, daß ein durch Ephedrin gelöster Pilocarpin-Bronchialkrampf ein zweitesmal nicht mehr aufgehoben wird.

Anläßlich früherer Untersuchungen (34) über die Wirkung des Ephedrins war es mir aufgefallen, daß ein durch Arecolin erzeugter Bronchialkrampf, der durch Ephedrin gelöst war, mit Arecolin nicht vor Ablauf mehrerer Stunden reproduziert werden konnte. Diese Tatsache bot an sich

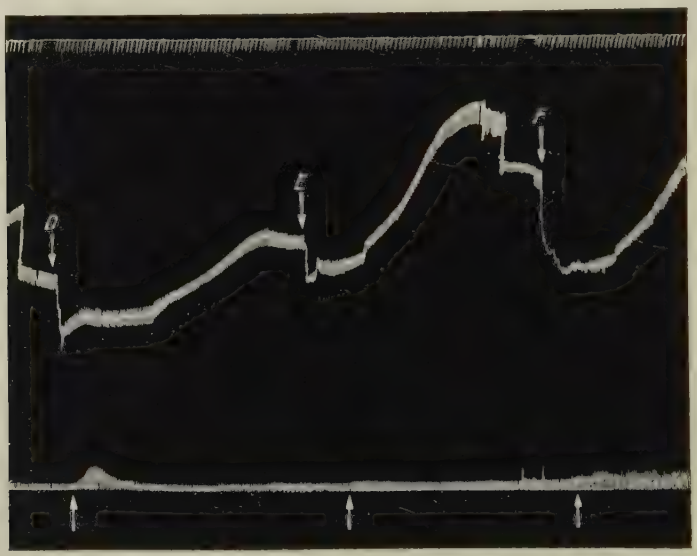


Abb. 7. Katze, 2800 g, dekapitiert. Messung des Tonus der Bronchialmuskulatur nach Kiese bzw. Rietschel. Atemvolumen: 90 ccm. Belastung: 300 g. D = 0,1 mg/kg Arecolin. E = 0,1 mg/kg Arecolin + 0,5 mg/kg Veritol. F = desgl. Zeitzeichen: 15 Sekunden.

nichts Auffälliges, sie zeigte nur, daß die biologische Reaktion abgeklungen ist, die pharmakologische Substanz aber noch längst nicht an Wirkung verloren hat (s. Blutdruckversuche S. 458). Diese Reaktionsmöglichkeit wird erst dann eingebüßt, wenn alle Substanz zerstört oder aus dem Organismus ausgeschieden ist. Eine größere Reihe neuer Versuche, die ich mit einer besonderen Methode der Messung von Bronchialkrämpfen nach Kiese (33) und Rietschel (34) anstellte, zeigte, worauf auch bereits Kiese (33) hingewiesen hat, daß die spasmuslösenden Eigenschaften des Ephedrins und Veritols in spannungserzeugende übergehen, daß mit anderen Worten das tachyphylaktische Phänomen an der Bronchialmuskulatur genau so wie am Kreislauf auftritt. Damit wird an sich schon die Theorie von der allmählich eintretenden Herzschwäche oder mangelnder Bereitstellung von Depotblut für die Tachyphylaxie hinfällig. In den Versuchen beobachtete

ich unter Ephedrin bei verschiedener Dosierung ziemlich regelmäßig auf einen Arecolinbronchialkrampf, der durch Ephedrin gelöst wird, in der Folge einen Arecolinbronchialkrampf, der nun durch Ephedrin noch verstärkt wird (s. Abb. 7), obwohl die absolute Menge an Ephedrin durch die neue zusätzliche Dosis so vergrößert wurde, daß ein Arecolinbronchialkrampf ohne Bestehen einer Tachyphylaxie immer hätte gelöst werden müssen. Veritol versagt öfters in dieser Hinsicht, die Umkehrwirkung an der Bronchialmuskulatur kann hier nicht immer beliebig reproduziert werden, wodurch wiederum die besondere Stellung des Veritols als Glied zwischen Adrenalin und Ephedrin gekennzeichnet ist.

Tachyphylaxie ist also nicht nur ein spezifisches Kreislauf-, sondern ein allgemeines Organphänomen. Durch die im Körper von einer ersten Injektion her noch vorhandene Substanz kommt es bei erneuter Darreichung zu einer Umstimmung im vegetativen Nervensystem. Diese Umstimmung wurde Tachyphylaxie genannt. Möglicherweise sind neben dieser Umstimmung auch noch andere Faktoren für das Phänomen verantwortlich, eine Notwendigkeit hierzu besteht allerdings nicht. (Statische Wirkung an der glatten Muskulatur.)

III.

Im ersten Teil meiner Arbeit wurde das Zustandekommen des tachyphylaktischen Phänomens beschrieben, im zweiten eine Klärung seines Wirkungsmechanismus versucht, im dritten soll auf die Bedeutung des Phänomens für den Organismus, auf seine Einordnung in den Ablauf biologischer Reaktionen eingegangen werden. Das Zustandekommen der Tachyphylaxie ist neben anderen Umständen vom jeweiligen Tonus des vegetativen Nervensystems abhängig. Das Phänomen kann aber andererseits nur vom vegetativen Nervensystem aus erklärt werden; es stellt sozusagen einen Sonderfall einer Umstimmung dar, wo durch Darreichung bestimmter Arzneisubstanzen über mehrere Male die Reaktionsweise des vegetativen Systems geändert wird.

Was bedeutet nun die Tachyphylaxie für den Organismus? Sind die Umkehrreaktionen des Ephedrins, Veritols, des eingangs erwähnten Tyramins und Hypophysins die einzigen die es gibt, oder ist Tachyphylaxie ein bei den Lebewesen weiter verbreiteter Reaktionsmechanismus? Karady (35) hat zuerst auf eine Histamintachyphylaxie aufmerksam gemacht. Er beobachtete nach mehrmaligen Injektionen von Histamin, wobei die jeweiligen Reaktionen erst ganz abgeklungen waren, zuweilen ein Umschlagen der Blutdrucksenkung in Steigerung.*

* Unter der Voraussetzung, daß die Tachyphylaxie des Ephedrins, Veritols und die des Histamins in ihrem Wesen verwandte Vorgänge (Umstimmung des vegetativen Nervensystems) – für die Histamintachyphylaxie müßte der Beweis erst angetreten werden — sind, verliert die Vorstellung, daß auch die glatte Muskulatur ursächlich am tachyphylaktischen Phänomen beteiligt ist, an Bedeutung. Bei einer fortdauernden statischen Wirkung an der glatten Muskulatur im Sinne von Schaumann (2) kann keine Blutdrucksteigerung eintreten.

In einigen Versuchen mit gehäuften Injektionen von Histamin gelang es mir nicht, den Befund von Karady (35) zu bestätigen. Nach Abklingen einer Histaminreaktion erhielt ich bei neuer Histamindarreichung immer wieder Blutdrucksenkungen. Eichler und Killian (36), aber auch Karady (35) haben eine Art Histaminunempfindlichkeit beobachtet, die sie ebenfalls Histamintachyphylaxie genannt haben. Sie konnten durch mehrere Dosen von 0,1—1 mg Histamin am Kaninchen erreichen, daß neue Injektionen von 20 ja 150 mg! überhaupt nicht mehr wirksam waren, obwohl 2 mg als einmalige Dosis absolut tödlich wirken. Busquet und Vischniac (37) haben einen ähnlichen Fall einer Tachyphylaxie des Gummi arabicum beschrieben. 1 mg Gummi arabicum führt an der Katze zu einer Blutdrucksenkung, nach Abklingen der Reaktion sind selbst höhere Dosen des Stoffs nicht mehr wirksam. Beide Fälle sind klare Beispiele einer arzneilichen Unempfindlichkeit*. Bei der allmählich, oft erst nach vielen Dosen einsetzenden Histaminunempfindlichkeit denken Eichler und Killian (36) an eine Gewöhnung des Organismus. Aber bei der Gewöhnung im strengen Sinne kann der Körper die biologischen Reaktionen noch wie zuvor zustandebringen, nur müssen die Substanzmengen bei jeder folgenden Injektion erhöht werden. Bei der echten Unempfindlichkeit unterbleibt jegliche Reaktion und bei der Tachyphylaxie — wenngleich das Wort den Vorgang keineswegs richtig kennzeichnet —, tritt auf Grund einer allgemeinen Umstimmung im Organismus, speziell im vegetativen Nervensystem, eine Umkehrung der Reaktionen nach der entgegengesetzten Seite ein (Blutdrucksteigerung in Senkung, Bronchialkrampflösung in Krampferzeugung). Diese, durch pharmakologische Substanzen erzeugten „Nicht- oder Andersreaktionen", haben eine deutliche Ähnlichkeit mit gewissen serologischen Vorgängen, die in das Gebiet der Immunität und Allergie gehören, wobei im Falle der arzneilichen Andersreaktionen kaum wie bei der echten Allergie eine Bildung von Antikörpern anzunehmen ist. Gibt es doch andererseits auch eine arzneiliche wie serologische Überempfindlichkeit, die in ihren klinischen Erscheinungsformen völlig identisch sein können**. Eindeutig klare Umkehrreaktionen der Serologie, wie die der Tachyphylaxie der Arzneisubstanzen, sind schwer beweisbar, immerhin

* Sowohl Eichler und Killian (36) wie Karady (35) sprechen von einer Histaminimmunität, und auch Busquet und Vischniac (37) bezeichnen das Unwirksamwerden der Angriffspunkte bei wiederholter Injektion von Gummi arabicum als Immunität. Immunität ist aber ein Begriff der Serologie und verlangt wie der der Allergie das Vorhandensein von Antikörpern. Ich habe darum absichtlich davon abgesehen, die angeführten Beispiele einer arzneilichen Unempfindlichkeit als Immunität zu bezeichnen.

** Auch das Arzneiexanthem ist nach meiner Meinung eine echte Überempfindlichkeitsreaktion, wobei Antikörper gebildet werden. Wahrscheinlich werden durch ein arzneiliches Gift, das zur Überempfindlichkeit führt, Eiweißkörper im Organismus frei, die als Antigene wirken und ihrerseits Antikörper bilden. Vielleicht liegen der arzneilichen Unempfindlichkeit ähnliche Vorgänge, d. h. Bildung von Eiweißkörpern, zugrunde. Damit wäre dann die arzneiliche Unempfindlichkeit eine echte Immunität.

sind von Doerr (38) eine größere Reihe von Hinweisen in dieser Richtung gegeben worden.

Diese Ausführungen sollen keinesfalls bedeuten, etwa das tachyphylaktische Phänomen mit ähnlichen serologischen Vorgängen zu identifizieren, es sollten lediglich einige Parallellen des Mechanismus und des Erscheinungsbildes berührt werden. Zu einer Tachyphylaxie im Sinne der eingangs genannten Definition führen nur wenige Stoffe, die im wesentlichen sympathicusreizend bzw. erregend auf die glatte Muskulatur wirken. Zu ihnen gehören: Ephedrin, Tyramin, Veritol und Hypophysin. Sie alle wirken pharmakologisch ziemlich ähnlich, blutdrucksteigernd, bronchialkrampflösend usw. Sie werden langsam im Organismus zerstört oder aus diesem ausgeschieden*. Gerade nach den Arbeiten von Rein (16) und Gremels (39) beurteilen wir heute eine pharmakologische Substanz ebensosehr nach ihrem Stoffwechseleffekt (O_2-Verbrauch) wie nach ihrer dynamischen Leistung. Es erscheint vielleicht möglich, aus den gemeinsamen Merkmalen der Wirkungsweise tachyphylaktischer Substanzen einen Sinn für jene Umkehrreaktionen, die der Organismus vornimmt, herauszulesen. Dieser Sinn liegt in den besonderen Stoffwechselvorgängen, die diese Substanzen bedingen. Alle diese Arzneistoffe** führen zu einer lang anhaltenden Steigerung des O_2-Verbrauchs und gestalten daher die Arbeit des Organismus unökonomisch. Dieser erhöhte Sauerstoffverbrauch hält bis zum Moment der endgültigen Zerstörung oder Eliminierung der Substanz aus dem Körper an. Es ist also denkbar, daß der Organismus, besonders dann, wenn er an sich schon leichteren Schäden ausgesetzt ist (Narkose usw.), und bereits zwei- oder dreimal mit Sympathicusreizung auf eine der Substanzen geantwortet hat, nunmehr bemüht ist, Schutzreaktionen einzurichten, die ihm gestatten, mit der Substanz in einer für den Stoffwechsel seiner Zellen ökonomischen Weise fertig zu werden. Besonders nach den Untersuchungen von Gremels (44) und Gremels und Zinnitz (45) ist die O_2 sparende Wirkung der Parasympathicusreizung bekannt. Es erscheint sogar keineswegs unmöglich, daß bei der Injektion von Substanzen, d. h. durch das eingegebene Gift, erst gewisse Ferment-

* Den echten Giften im pharmakologischen Sinne kann man die sogenannten Potentialgifte gegenüberstellen. Es ist auffällig, daß fast alle Gifte, solange noch Substanz im Organismus vorhanden ist, zur Tachyphylaxie, Gewöhnung oder Unempfindlichkeit führen, der Körper sich also auf diese Stoffe umstellt. Die echten Potentialgifte im Sinne von Straub (40) und Gremels (41), Stoffe, die der Organismus selbst bildet, wirken immer wieder, so oft man sie auch gibt. Das ständig vorhandene Gefälle, rasche Zerstörung und rascher Wiederaufbau verhindern eine Umstellung des Organismus. Aber auch das Potentialgift Adrenalin wird zum echten Gift, wenn gehäufte, unphysiologisch hohe Dosen rasch hintereinander gegeben werden. Dabei kommt es zum Ausbleiben jeglicher Wirkung (Unempfindlichkeit) [Pick (42)].

** Nach Rein (16) wird allerdings der O_2-Verbrauch des Herzens unter Veritol vermindert, Gollwitzer-Meier und Krötz (43) und auch Kiese (18) konnten jedoch einen gesteigerten O_2-Verbrauch unter Veritol bei verschiedenster Dosierung, genau wie bei Adrenalin und Ephedrin, feststellen.

reaktionen, Stoffwechselvorgänge und der Gaswechsel geändert werden und diese Wirkungen den qualitativen und quantitativen Ausfall der biologischen Reaktion bestimmen*. Wir fassen also das Phänomen der Tachyphylaxie als einen Schutzmechanismus des Organismus auf.

Ob die Frage der Tachyphylaxie eine Bedeutung für den menschlichen Organismus hat, wissen wir nicht. In fast allen Arbeiten [Robbers (46), Colombi (47)] wird das Vorhandensein einer solchen verneint. Die in der Humanmedizin angewandten Dosen von Ephedrin und Veritol sind wahrscheinlich zu gering, um wirklich tachyphylaktische Umstellungen im Organismus zu verursachen. Andererseits ist es aber eine allgemeine Erfahrung, daß der Organismus auf ein Heilmittel in wiederholter Darreichung oft anders anspricht, als wir erwarten, und es wäre durchaus denkbar, daß unter der Wirkung von noch vorhandener Substanz der Körper auf die gleiche oder eine neue Substanz in einer geänderten Reaktionsform antwortet. Tachyphylaxie ist eine von mehreren Möglichkeiten arzneilicher Umstimmung im Organismus.

Zusammenfassung.

1. Die Entstehung der Tachyphylaxie hängt von der Tierspecies, Narkose bzw. vom jeweiligen Allgemeinzustand des Versuchstiers ab.

2. Art und Grad der tachyphylaktischen Reaktion sind bei jedem zur Tachyphylaxie führenden Arzneimittel verschieden. Ephedrin führt zu einer starken, Veritol zu einer weniger starken Tachyphylaxiebereitschaft. Eine Klassifizierung der Kreislaufmittel in sympathicotrope und sympathicomimetische ist auf Grund verschiedenen Verhaltens nur schwierig durchführbar. Kleine Dosen von Ephedrin und Veritol verhindern die Tachyphylaxie. Das tachyphylaktische Phänomen kann erzeugt werden, indem bei der zweiten oder dritten Injektion eine andere Substanz gewählt wird als bei der ersten.

3. Eine Erklärung der Tachyphylaxie als Summationswirkung mehrerer kleiner Dosen im Sinne einer einzigen, die den Parasympathicus reizt, ist unzutreffend.

4. Zentrale Einflüsse sind für das Phänomen nicht ausschlaggebend. Auch die Entfernung der Nebennieren und Vagusdurchschneidung sind ohne Einfluß.

5. Nachlassen der Herzleistung kann nicht zur Klärung des Phänomens herangezogen werden.

---

* Die Möglichkeiten, die Karady (35) zur Erklärung des tachyphylaktischen Phänomens erörtert, sind alle sekundärer Natur. Er spricht von gewissen chemischen oder physikalischen Eigenschaften (Änderungen im kolloidalen Zustand usw.), von p_H-Verschiebungen im Organismus — auch Eichler und Killian (36) beobachteten eine Azidose bei der Histaminimmunität — von einer Einübung des Organismus auf tachyphylaktische Substanzen; Verschiebungen der Wasserstoffionenkonzentration mögen beobachtet worden sein, sie sind aber niemals das primäre Moment für den Ablauf eines Reaktionsmechanismus.

6. Eine mangelnde Bereitstellung von Blut aus den Depotorganen ist ebenfalls nicht für die Tachyphylaxie verantwortlich.

7. Ergotaminsensibilisierungen führen zu einer erhöhten Tachyphylaxiebereitschaft. Durch größere Mengen von Atropin oder Cocain kann das Phänomen teilweise oder völlig aufgehoben werden. Zu Umkehrreaktionen kommt es gar nicht mehr.

8. Auch an der Bronchialmuskulatur tritt Tachyphylaxie in gleicher Weise wie am Blutdruck auf.

9. Es wird auf gewisse Parallelen der Tachyphylaxie zu serologischen und immunbiologischen Vorgängen eingegangen. Der Unterschied von Tachyphylaxie, Gewöhnung und arzneilicher Unempfindlichkeit wird erörtert.

10. Die Tachyphylaxie beruht auf einer Umstimmung des vegetativen Nervensystems. Sie kann als eine Schutzreaktion des Organismus vor zu hohem Sauerstoffverbrauch aufgefaßt werden.

Literatur.

1) Champy, Chr., u. E. Gley: C. r. Soc. Biol. **71**, 159 (1911). — 2) Schaumann, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **160**, 127 (1931). — 3) Geiling u. Campbell: J. Pharmacol. (Am.) **29**, 449 (1926). — 4) Larson: Ebenda **54**, 151 (1935). — 5) Eichler, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 429 (1937). — 6) Chen, K. K., u. Schmidt: J. Pharmacol. (Am.) **24**, 339 (1925). — 7) Chen, K. K.: Ebenda **33**, 215 (1928). — 8) Mügge, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **165**, 230 (1932). — 9) Takacs, L.: Wien. klin. Wschr. **1928**, S. 1375. — 10) Tainter, M. L.: J. Pharmacol. (Am.) **36**, 569/574 (1929). — 11) Chen, K. K.: Ebenda **28**, 31 (1928). — 12) Hauschild, Fr., u. L. Lendle: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 367 (1935). — 13) Schilf: Das autonome Nervensystem. Leipzig, Verl. Georg Thieme, 1926. — 14) Haferkorn, M., u. L. Lendle: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **172**, 501 (1933). — 15) Laginski u. Stehle: J. Pharmacol. (Am.) **38**, 473 (1930). — 16) Rein, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 617 (1937). — 17) Raymond-Hamet: Zit. nach Rona: Ber. **94**, 479 (1936). — 18) Kiese, M., Garan u. Krautwald: Klin. Wschr. **28**, 967 (1938). — 19) Kreitmair, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **120**, 189 (1927). — 20) Raymond-Hamet: Ebenda **160**, 1 (1931). — 21) Tainter, M. L.: J. Pharmacol. (Am.) **46**, 27 (1932). — 22) Nagel, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **110**, 129 (1925). — 23) Pak, Chub-Jung, u. Bernard E. Read: Zit. nach Rona: Ber. **45**, 571 (1928). — 24) Curtis, F. R.: J. Pharmacol. (Am.) **34**, 37 (1921). — 25) Schübel, K.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **157**, 113 (1930). — 26) De Eds: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **24**, 80 und 554, (1926/1927). — 27) Swanson, Edward E., u. Robert K. Webster: J. Pharmacol. (Am.) **38**, 327 (1930). — 28) Tainter: Ebenda **36**, 593 (1929). — 29) Chen, K. K.: Ebenda **33**, 237 (1928). — 30) Gruber, Charles: Ebenda **57**, 347 (1936). — 31) Swanson, Edward E.: Ebenda **36**, 541 und 569 (1929). — 32) Handovsky, H.: Arch. internat. Pharmacodynam. **51**, 301 (1935). — 33) Kiese, M.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 342 (1935). — 34) Rietschel, H. G.: Klin. Wschr. **1935**, S. 1649. — 35) Karady, St.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 283 (1936). — 36) Eichler u. Killian: Ebenda **159**, 606 (1932). — 37) Busquet, H., u. Vischniac: C. r. Soc. Biol. **100**, 642 (1929). — 38) Doerr, R.: Handbuch d. path. Mikroorganismen, Bd. I, **2**, 759 (1929). — 39) Gremels, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 1 (1936). — 40) Straub, W.: Ebenda **57**, 423 (1907). — 41) Gremels, H.: Verhandl. d. internat. Phys. Kongresses Zürich (1938). — 42) Pick u. Fröhlich: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **71**, 23 (1913). — 43) Gollwitzer-Meier, Kl., u. Chr. Kroetz: Klin. Wschr. **1939**, S. 869. — 44) Gremels, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **179**, 360 (1935); **188**, 328 (1938). — 45) Gremels, H., u. F. Zinnitz: Ebenda **188**, 79 (1937). — 46) Robbers: Münch. Med. Wschr. **1937**, S. 819. — 47) Colombi: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. **1938**, S. 326.

Aus dem Institut für Pharmakologie und Experimentelle Therapie der Universität Breslau. (Direktor: Prof. Dr. O. Eichler.)

Untersuchungen an Ratten über die Beeinflussung der Harnmenge und der Mineralausscheidung durch subcutane Injektionen von destilliertem Wasser.

Von

Hubert Vollmer und **Alfons Irmer.**

(Eingegangen am 3. August 1939.)

Über die Wirkung subcutaner Injektionen kleiner Flüssigkeitsmengen auf die Wasser- und Salzdiurese ist nichts bekannt. Bei der Prüfung der Beeinflussung der Mineralausscheidung und der Harnmenge durch Coffein hatten sich in langfristigen Bilanzversuchen an Ratten Wirkungen über mehrere Tage ergeben[1]. In einem Teil der Versuchsserien erhielten die Kontrolltiere Injektionen entsprechender Mengen von destilliertem Wasser, um eine Wirkung der Injektion an sich auszuschließen. Die dabei und bei weiterer systematischer Prüfung beobachteten beträchtlichen Wirkungen sollen nachstehend gesondert von den Coffeinversuchen mitgeteilt werden, da sie in Zukunft bei Versuchen mit den verschiedenartigsten Substanzen beachtet werden müssen.

Methodik.

Hinsichtlich der Darstellung unserer Methodik beschränken wir uns auf die Darlegung des Prinzips, da Versuchsanordnung und chemische Methodik in einer Arbeit über die Beeinflussung der Mineralausscheidung und der Harnmenge durch Coffein ausführlich beschrieben werden[1].

Für die langfristigen Bilanzversuche wurden Ratten von 200—300 g Gewicht verwendet, die ein Futter von konstanter Zusammensetzung erhielten und während der ganzen Versuchsperioden in den Diuresekäfigen verblieben. Der Mineralstoffwechsel befand sich bei Beginn der eigentlichen Versuche im Gleichgewicht.

Die Tiere erhielten mit unwesentlichen Abweichungen eine Diät, bei der in Versuchen von Miller[2] junge Ratten optimale Gewichtsentwicklung zeigten. Dieses Futter wurde aus Stärke, Casein, Trockenhefe, Lebertran, Salzgemisch, Agar-Agar und Wasser bereitet und war von pastenartiger Konsistenz. Die Tiere erhielten von diesem Futter täglich 40 g, in der Serie 6 unserer Tabellen 45 g. Entsprechend dem Gehalt von durchschnittlich 70% Wasser war die Wasserzufuhr mit dem Futter ausreichend. Das Salzgemisch bestand aus $NaCl$, $MgSO_4$, Na_2HPO_4, K_2HPO_4 $Ca_2H_2(PO_4)_2 \cdot 4\,H_2O$, Calcium lacticum und Ferrum citricum. Über die Bilanzen wird in der Coffeinarbeit berichtet.

Bei den Versuchen der vorliegenden Arbeit wurden Kalium und Natrium in Tagessammelharnen der einzelnen Gruppen, Chlor in den einzelnen Harnen be-

[1] Vollmer: Naunyn-Schmiedebergs Arch., in Vorbereitung. Einige Versuche finden sich in der Arbeit über die Technik des Diureseversuchs in diesem Bande. — [2] Miller: J. biol. Chem. (Am.) **55**, 45 u. 61 (1923).

stimmt. Die Chlorbestimmung erfolgte nach Volhard. Für die Bestimmung von K und Na wurde mit Salpetersäure und Perhydrol verascht. Kalium wurde nach Tisdall und Kramer durch Fällung als Kaliumnatriumhexanitrokobaltiat und Zerlegung mit Permanganat, Natrium gravimetrisch durch Fällung als Natriumuranylzinkacetat bestimmt.

Die Auswertung erfolgte in üblicher Weise durch Berechnung der Streuung. In den Tabellen 1 und 2 über die Beeinflussung von Harnmenge und Harnchlor sind entsprechend der Zusammenfassung von Einzelwerten die Streuungen der Durchschnittswerte, in den Tabellen 3 und 4 über die Ausscheidung von Kalium und Natrium als Grundlage des Vergleichs mit den Sammelharnen die Streuungen der Kollektive angegeben.

Versuche.

Insgesamt wurden für die Versuche mit destilliertem Wasser 39 Tiere verwendet, die 0,1—1,0 ccm Wasser/100 g Körpergewicht erhielten. Die Ergebnisse zeigen zunächst die Tabellen 1—4 für die Beeinflussung der Harnmenge und der Ausscheidung von Cl, Na und K. In diesen Tabellen sind nicht die Werte der Ausscheidung an den Tagen nach den Injektionen angegeben, sondern die Differenzen gegenüber den Normalwerten mit ihren Streuungen. Die Durchschnittswerte bzw. bei den Sammelharnen die eigentlichen Befunde können unschwer ermittelt werden. Zur Ermöglichung von Vergleichen sind die Werte für K, Na und Cl stets in Millimol ausgedrückt. Versuche mit gleichen Dosen an verschiedenen Tierserien sind getrennt dargestellt, da die Ergebnisse zwar im Prinzip gleichartig sind, in Einzelheiten aber doch Unterschiede aufweisen.

Beeinflussung der Harnmenge.

Die Tabelle 1 läßt erkennen, daß die einmalige Injektion von 0,1 bis 0,25 ccm/100 g die Harnmenge in den nächsten 24 Stunden nicht ändert. Dagegen kommt es am 2. und 3. Tag zu Schwankungen. Diese sind am 3. Tage in Form von Steigerungen in 7 von 8 Versuchsgruppen gleichsinnig. Am 4. Tag ist die Harnmenge wieder normal. Ganz ähnlich liegen die Verhältnisse für die Untersuchungen mit 0,5 ccm/100 g. Auch hier zeigen sich Harnvermehrungen am 3. Tage nach der Injektion. Versuche an 24 Tieren ergeben somit, daß die Injektion kleiner Mengen von destilliertem Wasser die Harnmenge mit Verzögerung vermehrt. Etwas anders ist der Befund bei der Dosis 1 ccm/100 g. Hier treten ebenfalls Diuresesteigerungen auf, doch zeigen sich diese in 2 Gruppen schon am 1. Tage und halten bis zum 3. Tage an. Die letzte Gruppe wies eine Harnvermehrung nur am 2. Tage auf. Wie die Tabelle völlig eindeutig ausweist, bedingt die subcutane Injektion kleiner Wassermengen (0,1—1 % des Körpergewichts) Änderungen der Harnmenge jenseits des 1. Tages nach der Injektion, fast immer (7 von 8 Versuchsgruppen) noch am 3. Tage danach.

Beeinflussung des Harnchlors.

Völlig anders, aber auch wieder gleichsinnig, ist die Beeinflussung des Harn-Cl. Die diesbezügliche Tabelle 2 ist wie die folgenden Tabellen der Tabelle 1 analog zusammengestellt. Während die Harnmenge am 1. Tage

Tabelle 1. Wirkung einer einmaligen Injektion von destilliertem Wasser auf die Harnmenge.

Serie Nr.	Zahl der Tiere	Normalwert	Injiz. Wassermenge ccm/100g	Differenzen gegenüber Normalwerten					Änderung in %				
				1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
1	5	$15{,}6 \pm 0{,}33$[1]	0,1	$-0{,}2 \pm 1{,}02$	$-2{,}0 \pm 0{,}24$	$+3{,}0 \pm 0{,}86$			—	$-12{,}8$	$+19{,}9$		
2	5	$17{,}3 \pm 0{,}35$[2]	0,1	$-0{,}7 \pm 1{,}18$	$+1{,}8 \pm 1{,}2$	$+2{,}8 \pm 0{,}82$	$+0{,}6 \pm 0{,}79$		—	$+10{,}4$	$+16{,}2$	—	
3	4	$19{,}4 \pm 0{,}21$[3]	0,25	$-0{,}1 \pm 0{,}73$	$-0{,}6 \pm 1{,}1$	$+1{,}5 \pm 0{,}61$	$+0{,}5 \pm 1{,}25$	$+1{,}1 \pm 1{,}33$	—	—	$+7{,}7$	—	—
4	5	wie 1	0,5	$-0{,}9 \pm 0{,}74$	$+1{,}7 \pm 0{,}79$	$+1{,}8 \pm 1{,}13$			$-5{,}8$	$+10{,}9$	$+11{,}5$		
5	5	wie 2	0,5	$-0{,}3 \pm 0{,}82$	$0 \pm 0{,}81$	$+1{,}5 \pm 0{,}91$	$-1{,}4 \pm 0{,}68$	$+2{,}2 \pm 0{,}68$	—	—	$+8{,}9$	$-8{,}8$	$+11{,}5$
6	6	$20{,}3 \pm 0{,}35$[4]	1,0	$+2{,}9 \pm 1{,}06$	$+3{,}7 \pm 1{,}19$	$+2{,}7 \pm 1{,}20$	$+0{,}7 \pm 0{,}95$		$+14{,}9$	$+19{,}0$	$+13{,}3$		
7	4	$18{,}5 \pm 0{,}26$[5]	1,0	$+1{,}8 \pm 1{,}31$	$+5{,}0 \pm 1{,}39$	$+2{,}9 \pm 2{,}0$	$+0{,}4 \pm 1{,}71$		$+9{,}2$	$+25{,}0$	$+14{,}9$		
8	5	wie 2	1,0	$+0{,}8 \pm 1{,}19$	$+3{,}1 \pm 0{,}70$	$+0{,}1 \pm 0{,}65$	$+0{,}1 \pm 0{,}87$			$+17{,}9$	—	—	

[1] 15 Einzelwerte. — [2] 35 Einzelwerte. — [3] 153 Einzelwerte. — [4] 54 Einzelwerte. — [5] 71 Einzelwerte.

Tabelle 2. Wirkung einer einmaligen Injektion von destilliertem Wasser auf das Harn-Cl.
(Die Numerierung der Gruppen entspricht der Tabelle 1.)

Serie Nr.	Zahl der Tiere	Normalwert Cl in Millimol	Injiz. Wassermenge ccm/100g	Differenzen gegenüber Normalwerten					Differenzen in %				
				1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
1	5	$0{,}54 \pm 0{,}013$[1]	0,1	$0{,}0 \pm 0{,}01$	$-0{,}18 \pm 0{,}07$	$+0{,}04 \pm 0{,}03$			—	$-33{,}3$	$+7{,}4$		
2	5	$0{,}52 \pm 0{,}016$[2]	0,1	$-0{,}12 \pm 0{,}04$	$+0{,}06 \pm 0{,}03$	$+0{,}09 \pm 0{,}05$	$-0{,}02 \pm 0{,}003$		$-23{,}0$	$+11{,}5$	$+17{,}3$	$-3{,}8$	
3	4	wie 1	0,25	$-0{,}13 \pm 0{,}05$	$+0{,}07 \pm 0{,}06$	$+0{,}08 \pm 0{,}01$	$+0{,}02 \pm 0{,}05$	$+0{,}04 \pm 0{,}05$	$-24{,}1$	$+13{,}0$	$+15{,}0$		$+7{,}5$
4	5	wie 1	0,5	$-0{,}21 \pm 0{,}02$	$+0{,}02 \pm 0{,}01$	$+0{,}09 \pm 0{,}04$			$-53{,}7$	$+3{,}7$	$+16{,}7$		
5	5	wie 2	0,5	$-0{,}13 \pm 0{,}02$	$+0{,}05 \pm 0{,}03$	$+0{,}07 \pm 0{,}04$	$-0{,}01 \pm 0{,}03$	$+0{,}02 \pm 0{,}02$	$-25{,}0$	$+9{,}6$	$+13{,}5$		$+4{,}0$
6	6	$0{,}61 \pm 0{,}016$[3]	1,0	$-0{,}07 \pm 0{,}03$	$+0{,}02 \pm 0{,}05$	$+0{,}01 \pm 0{,}06$	$-0{,}07 \pm 0{,}02$		$-11{,}5$	—	—	$-11{,}5$	
7	4	wie 6	1,0	$-0{,}12 \pm 0{,}03$	$+0{,}07 \pm 0{,}03$	$0 \pm 0{,}05$	$-0{,}03 \pm 0{,}05$		$-19{,}6$	$+11{,}5$	—	—	
8	5	wie 2	1,0	$-0{,}09 \pm 0{,}03$	$+0{,}09 \pm 0{,}02$	$-0{,}06 \pm 0{,}02$	$0 \pm 0{,}03$		$-17{,}3$	$+17{,}3$	$-11{,}8$	—	

[1] 153 Einzelwerte. — [2] 25 Einzelwerte. — [3] 64 Einzelwerte (45 g Futter).

Tabelle 3. Wirkung einer einmaligen Injektion von destilliertem Wasser auf das Harn-Na.

Serie Nr.	Zahl der Tiere	Normalwert Na in Millimol	Injiz. Wassermenge ccm/100 g	Differenzen gegenüber Normalwerten					Änderung in %				
				1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
1	5	$0{,}63 \pm 0{,}07$[1] (32 Werte)	0,1	+ 0,05	− 0,04	+ 0,15			—	—	+ 22,2		
2	5	wie 1	0,1	− 0,26	− 0,01	+ 0,06	− 0,09		− 41,1	—	—	− 14,3	
3	4	wie 1	0,25	+ 0,02	+ 0,03	+ 0,07	− 0,02	− 0,05	—	—	+ 11,1	—	—
4	5	wie 1	0,5	− 0,29	+ 0,02	− 0,08			− 46,0	—	− 12,7		
5	5	wie 1	0,5	− 0,22	+ 0,03	0	− 0,13	− 0,08	− 34,9	—	—		
6	6	$0{,}71 \pm 0{,}05$ (16 Werte)	1,0	− 0,17	− 0,03	− 0,11	− 0,1		− 27,0	—	− 17,4	—	
7	4	$0{,}65 \pm 0{,}07$[2] (16 Werte)	1,0	+ 0,09	+ 0,04	+ 0,02	0		+ 13,9	—	—	—	
8	5	wie 1	1,0	− 0,14	+ 0,04	− 0,12	− 0,01		− 21,5	—	− 18,5	—	

Tabelle 4. Wirkung einer einmaligen Injektion von destilliertem Wasser auf das Harn-K.

Serie Nr.	Zahl der Tiere	Normalwert K in Millimol	Injiz. Wassermenge ccm/100g	Differenzen gegenüber Normalwerten					Änderung in %				
				1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
1	5	$1{,}42 \pm 0{,}13$[1] (31 Werte)	0,1	− 0,31	− 0,12	+ 0,09	—		− 21,1	—	—		
2	5	wie 1	0,1	+ 0,04	+ 0,11	+ 0,15	+ 0,14		—	—	+ 10,6	+ 9,9	
3	4	wie 1	0,25	− 0,02	+ 0,04	+ 0,36	− 0,10	− 0,08	—	—	+ 25,4	—	—
4	5	wie 1	0,5	+ 0,21	+ 0,48	− 0,12	—		+ 14,1	+ 33,1	—		
5	5	wie 1	0,5	− 0,22	− 0,1	+ 0,06	− 0,10	− 0,10	− 15,6	—	—	—	—
6	6	$1{,}75 \pm 0{,}07$[2] (16 Werte)	1,0	+ 0,03	+ 0,1	− 0,12	− 0,13		—	+ 5,7	− 6,9	− 7,4	
7	4	$1{,}50 \pm 0{,}14$ (16 Werte)	1,0	+ 0,15	+ 1,36	+ 0,71	+ 0,16		+ 10,0	+ 90,7	+ 47,5	+ 10,7	
8	5	wie 1	1,0	+ 0,11	+ 0,50	+ 0,45	+ 0,20		—	+ 33,3	+ 30,0	+ 13,3	

[1] Streuung des Kollektivs; ebenso bei den anderen Normalwerten. — [2] Versuch mit 45 g Futter.

nach der Injektion in den Versuchen mit 0,1–0,5 ccm unverändert blieb und lediglich bei 2 von 3 Versuchsgruppen mit 1 ccm/100 g gesteigert war, zeigten mit einer Ausnahme sämtliche Versuchsgruppen eine Verminderung der Cl-Ausscheidung. Diese Verminderung ist mit 11–54% erheblich. Die Versuche lassen keine Abhängigkeit von der Dosierung erkennen. Am 2. Tage wiesen diejenigen Tiere eine Chlorverminderung auf, deren Ausscheidung am 1. Tage normal geblieben war. Deutlich sind die Steigerungen der Chlorausscheidung am 2. und 3. Tage bei der Mehrzahl der Versuchsgruppen. Am 4. Tage waren die Cl-Werte praktisch in allen Fällen wieder normal. Auch die Ausscheidung des Chlors zeigte somit eine Wirkung der Wasserinjektion über 3 Tage.

Beeinflussung des Harnnatriums.

Von den beiden in die Untersuchung einbezogenen Kationen verhält sich das Natrium am 1. Tage nach der Injektion in der Mehrzahl der Versuche ähnlich wie das Chlor (Tabelle 3). 5 der 8 Versuchsgruppen weisen sehr erhebliche Senkungen auf (21–46%). Nur in einer Gruppe findet sich eine leichte Na-Vermehrung. Harn-Cl und Harn-Na werden aber nur am 1. Tage gleichsinnig verändert. Den Steigerungen der Cl-Ausscheidung am 2. und 3. Tage stehen beim Na am 2. Tage völlig normale Werte und am 3. Tage Schwankungen nach beiden Seiten gegenüber. Immerhin ist festzustellen, daß sich auch der Na-Stoffwechsel am 3. Tage nach der Wasserinjektion noch nicht im Gleichgewicht befindet.

Beeinflussung des Harnkaliums.

Die in der Tabelle 4 zusammengestellten Ergebnisse der K-Analysen zeigen, daß die K-Ausscheidung der Ausscheidung von Na und Cl nicht parallel geht. Die Verhältnisse am 1. Tage sind uncharakteristisch. Während 4 Gruppen keine Veränderungen zeigen, findet sich zweimal eine Senkung und zweimal eine Steigerung, wobei die Steigerung von 10% in Serie 7 kaum gewertet werden kann und je eine Steigerung und Senkung mit rund 15% nicht sehr erheblich sind. Die K-Ausscheidung ist also ähnlich wie die Harnmenge am 1. Tage nach der Injektion zumeist unverändert. Auch der 2. und 3. Tag zeigen gewisse Ähnlichkeiten im Verhalten der K- und der H_2O-Ausscheidung. An jedem der beiden Tage weisen 3 Versuchsgruppen K-Steigerungen auf, die mit 25–91% beträchtlich sind.

Besprechung.

Die vorstehend geschilderten Versuche haben gezeigt, daß bei der Ratte die subcutane Injektion kleiner Mengen von destilliertem Wasser zu Veränderungen der Harnmenge und der Mineralausscheidung führt[3]. Es

[3] Beim Kaninchen liegen die Verhältnisse anders. Hier wird die Harnmenge nicht beeinflußt. Vgl. die Arbeit von Vollmer u. Grünig in diesem Bande.

kommt am 1. Tage zu einer Senkung des Harn-Cl praktisch in allen Versuchen und zu einer Senkung des Harn-Na bei mehr als der Hälfte der Tiere, während Harnmenge und Harn-K praktisch kaum verändert werden. Der 2. Tag ist gekennzeichnet durch eine Steigerung der Harnmenge und des Harn-Cl bei der Mehrzahl, des Harn-K bei einem großen Teil der Tiere. Das Harn-Na ist an diesem Tage gegenüber der Norm völlig unverändert. Am 3. Tage hält die Steigerung bei der Harnmenge, beim Cl und beim K an, während das Harn-Na stärkere Schwankungen nach beiden Seiten aufweist. Am 4. und 5. Tage sind die Veränderungen praktisch verschwunden. Die Tabellen zeigen aber völlig eindeutig, daß die Gesamtbilanz der 4 Tage sehr oft nicht ausgeglichen ist, daß bei der Harnmenge und beim Kalium die Ausscheidung, beim Natrium die Retention in einem Teil der Versuche erheblich überwiegt. Die geringen Abweichungen von der Norm am 4. und 5. Tage und die Erfahrungen aus unseren Coffeinversuchen lassen darauf schließen, daß der Ausgleich sehr allmählich erfolgt.

Die dargelegten Verhältnisse werden weiterhin durch das Verhalten der Konzentrationen der geprüften Mineralstoffe und der Quotienten $\frac{K + Na}{Cl}$ und $\frac{K}{Na}$ demonstriert, für die Durchschnittswerte aus sämtlichen Versuchen in der Tabelle 5 zusammengestellt sind. Die Berechtigung zu einer derartigen Vereinigung der Versuche mit verschiedenen Dosen ergibt sich aus der Tatsache, daß die Versuche im allgemeinen keine Abhängigkeit von der Dosierung erkennen ließen.

Tabelle 5. Konzentrationen des Cl, Na und K, ferner Quotienten K/Na und $\frac{K + Na}{Cl}$ für alle Versuche zusammengefaßt. Konzentrationen in Millimol pro Liter.

	Normalwert	Tag nach Injektion			
		1.	2.	3.	4.
Konz. Cl	31,3	24,9	29,9	29,5	29,1
Konz. Na	36,9	30,0	34,6	31,9	31,9
Konz. K	83,7	82,0	88,2	84,8	82,3
Quotient $\frac{K}{Na}$	2,28	2,91	2,69	2,71	2,59
Quotient $\frac{K + Na}{Cl}$	3,86	4,64	4,24	4,21	3,94

Die Cl-Konzentration sinkt am 1. Tage durch die Cl-Verminderung bei gleichbleibender Harnmenge beträchtlich. Sie liegt an den Folgetagen dicht bei dem Normalwert, weil Harn- und Cl-Veränderung parallel gehen.

Auch die Na-Konzentration ist am 1. Tage durch Verminderung der Na-Ausscheidung gesenkt. Sie ist am 2. Tage bei normaler Na-Ausscheidung

und mäßig gesteigerter Harnmenge um rund 6% [4] unter dem Normalwert und sinkt dann wieder ab infolge der Harnvermehrung am 3. Tage bei uncharakteristischem Verhalten des Na. Der niedrige Wert des 4. Tages erklärt sich durch leichte, in den prozentualen Veränderungen der Haupttabellen nicht zum Ausdruck kommende Harnvermehrung und Na-Verminderung. Außerdem ist der Normalwert der 6 am 4. Tage geprüften Gruppen mit 35,3 geringer als der Normalwert der 8 Gruppen des 1. bis 3. Tages.

Im Gegensatz zu der am 1. Tage verminderten Konzentration des Cl und des Na ist entsprechend dem Fehlen einer Harnveränderung und einer Beeinflussung der K-Ausscheidung die K-Konzentration am 1. Tage normal. Die aus den Haupttabellen leicht zu ermittelnden Einzelwerte für die verschiedenen Versuchsgruppen zeigen für den 2. Tag eine Steigerung der Konzentration vor allem in den Gruppen 4, 7 und 8, so daß der Durchschnittswert ebenfalls vermehrt ist. In diesen Gruppen überwiegt die K-Vermehrung bei weitem die Harnvermehrung. Die gleichmäßige Steigerung der Harnmengen am 3. Tage bei nur teilweise erhöhter K-Ausscheidung bedingt in einem Teil der Versuchsgruppen Verminderung der Konzentration, die im Durchschnittswert aber durch die K-Vermehrung der Gruppen 7 und 8 ausgeglichen ist.

Entsprechend der Na-Verminderung am 1. und der K-Vermehrung am 2. und 3. Versuchstag steigt der Quotient K/Na. Ein ähnliches Verhalten ergibt sich bei der Betrachtung des Quotienten $\frac{K + Na}{Cl}$, wobei am 1. Tage die Cl-Verminderung die Na-Verminderung bei weitem überwiegt, während am 2. und 3. Tage durch die stark vermehrte Cl-Ausscheidung bei uncharakteristischem Verhalten des Na bei einigen der Versuche der Quotient vermindert ist. Der Durchschnittswert liegt trotzdem über der Norm durch die Cl-Verminderung der Gruppe 1 am 2. Tage und durch starke K-Vermehrung der Gruppen 3, 4, 7 und 8 am 2. bzw. 3. Tage.

Wenn wir eine Injektion von destilliertem Wasser unter die Haut vornehmen, müssen wir selbstverständlich eine lokale Gewebsschädigung annehmen. Wir sehen, daß diese lokale Störung tiefgreifende Änderungen des Mineralstoffwechsels im Gefolge hat, die sich über eine Reihe von Tagen hinziehen. Auf den ersten Blick am wenigsten zu erwarten ist bei unseren Versuchen die Tatsache, daß bei der Steigerung der Wasserdosis von 0,1 auf 1,0 ccm nicht wenigstens ein allgemeiner Gang der beobachteten Erscheinungen eintritt. Wir finden sogar, daß häufig die kleinste Dosis schon die volle Wirkung zeigt. Dieser Befund ist durchaus nicht als eine Frage der Streuung und des Zufalls abzutun. Dafür bürgt der Umfang unseres Ma-

[4] Bei der Größe unseres Materials sind auch relativ kleine Änderungen verwertbar.

terials. Er erklärt sich auch aus schon vorliegenden Untersuchungen, die allerdings nur unter Beachtung des Chlorids durchgeführt wurden[5]. Wird irgendein Gewebe an irgendeiner Stelle verletzt, dann zeigt sich eine weit über den Bereich der Verletzung hinausgehende Durchtränkung des Gewebes mit Chloriden. Da die Stelle der Verletzung im Verhältnis zu dem Raum der Durchtränkung klein ist, ergibt sich zwanglos der mangelnde Gang der Resultate bei Steigerung der Dosis.

Wir müssen die Änderungen auf das Bindegewebe beziehen, ein Objekt, das wir für die Fortsetzung unserer Untersuchungen besonders ins Auge gefaßt haben[6]. Wenn es sich um das Bindegewebe handelt, werden wir die Änderungen des Na und Cl leicht, die des K schwerer verstehen. Daß regelrechte Stoffwechselstörungen über den Mineralstoffwechsel hinaus vorliegen, kann man besonders aus der Entwicklung des Quotienten $\frac{K + Na}{Cl}$ erschließen, der auf eine überschießende Ausscheidung von Basen oder größere Ausscheidung von organischen Säuren hindeutet.

Unsere Befunde sind, abgesehen von den dabei auftretenden theoretischen Überlegungen, von Bedeutung für die Beurteilung von Versuchsergebnissen bei subcutaner Injektion irgendwelcher Substanzen, für uns vor allem für die Beurteilung der später zu behandelnden Wirkungen der Coffeininjektion auf den Mineralstoffwechsel und die Harnausscheidung. Die beschriebenen Wirkungen stellen, wenn man die osmotische Veränderung in den Vordergrund stellt, maximale Veränderungen dar, müssen aber trotzdem in ihrem ganzen Betrage in Rechnung gesetzt werden.

Zusammenfassung.

An Ratten im Mineralstoffwechsel-Gleichgewicht wurden Versuche über die Beeinflussung der Harnmenge und der Ausscheidung von Kalium, Natrium und Chlor durch einmalige subcutane Injektionen kleiner Mengen von destilliertem Wasser durchgeführt. Dabei ergab sich folgendes:

1. Die Harnmenge war bei Dosen von 0,1—0,5 % des Körpergewichtes am 1. Tage nach der Injektion unverändert, am 2. Tage zumeist, am 3. Tage fast in allen Versuchen eindeutig vermehrt. Größere Mengen bewirken zum Teil Harnvermehrungen schon am 1., aber auch noch an den folgenden Tagen.

[5] Eine eingehende Besprechung der diesbezüglichen Literatur bringt die in Vorbereitung befindliche Abhandlung von Eichler über „Anorganische Anionen" im Ergänzungswerk zu Heffter-Heubners Handbuch. — [6] Zunächst sind in den noch laufenden Untersuchungen über die Wirkung des Coffeins bei Diäten mit weitgehend variiertem Mineralgehalt stets Wasserversuche angesetzt worden, die möglicherweise neue Gesichtspunkte für die Deutung ergeben werden.

2. Das Harn-Cl war am 1. Tage praktisch immer beträchtlich vermindert, am 2., vor allem am 3. Tage nach der Injektion vermehrt.

3. Hinsichtlich der Ausscheidung des Na ergab die Mehrzahl der Versuche am 1. Tage ebenfalls eine Senkung, dagegen an den Folgetagen keine oder uncharakteristische Veränderungen.

4. Die Ausscheidung des K war wie die Harnmenge am 1. Tage nach der Injektion praktisch nicht verändert, im Laufe der beiden Folgetage bei 5 von 8 Versuchsgruppen deutlich vermehrt.

5. Die Möglichkeit derartiger Wirkungen der Flüssigkeitsinjektion ist bei Untersuchungen namentlich über den Mineralstoffwechsel zu berücksichtigen.

Aus dem Institut für Pharmakologie und Experimentelle Therapie der Universität Breslau. (Direktor: Prof. Dr. O. Eichler.)

Bemerkungen zur Technik des Diureseversuches, erläutert an Hand einiger Coffeinversuche*.

Von

Hubert Vollmer.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 3. August 1939.)

Jaretzky und Neuwald (J. und N.)[1] haben vor einiger Zeit berichtet, daß Ononisdekokte eine schwache diuresehemmende Wirkung besitzen, daß dagegen Ononisinfuse und vor allem Wasserdampfdestillate die Diurese fördern (Versuche an Ratten). Die Angabe einer Diuresehemmung durch Ononisdekokte stand im Gegensatz zu ebenfalls an Ratten erhobenen Befunden von Vollmer und Hübner (V. und H.)[2], die dann durch Vollmer und Giebel (V. und G.)[3] anläßlich der Prüfung von Drogengemischen bestätigt wurden. J. und N. stellen nunmehr[4] eine Wirkung von Anschüttelungen des ätherischen Öles fest und setzen sich mit den Befunden von V. auseinander. Die betreffenden Ausführungen bedürfen einer Stellungnahme in verschiedener Hinsicht. Dabei soll auf die Frage der Methodik der größte Wert gelegt werden, um nicht in das unfruchtbare Gebiet der reinen Polemik zu geraten. Eine Erörterung der Methodik wird vor allem für andere Untersucher wichtig sein.

Es wird angegeben, V. und G. hätten die Richtigkeit der Angaben von J. und N. bezweifelt und die wirksamen Ononisanteile nach wie vor für nichtflüchtig gehalten. Die Unrichtigkeit dieser Behauptung ergibt sich völlig eindeutig aus unserem Text: „Weiterhin haben wir eine Reihe von Versuchen mit Infusen angesetzt. Diese Infuse waren hinsichtlich der Harnmenge zum Teil schwächer wirksam als die Dekokte. Wir hatten somit keine Veranlassung, Infuse zu verwenden. Die Ermittlung von Hauhechelwurzeln, deren Infus stärker diuretisch wirkt, könnte im Hinblick auf die Zubereitung der Species diureticae wichtig sein. Wir können somit auf keinen Fall die angegebene Wirkungslosigkeit der Dekokte bestätigen und halten die in unseren Versuchen wirksamen Ononisanteile nach wie vor für nichtflüchtig."

Die Feststellung einer Wirkung der Infuse auch bei uns und die Andeutung der Möglichkeit verschiedener Inhaltsstoffe zeigt nicht den geringsten Widerspruch zu den Angaben von J. und N. bezüglich der Wirkung flüchtiger Anteile. Anderer

* Zugleich Bemerkungen über die diuretische Wirkung von Hauhechel und Schachtelhalm. — [1] Jaretzky u. Neuwald: Arch. Pharmaz. Ber. Dtsch. Pharmaz. Ges. **277**, 114 (1938). — [2] Vollmer u. Hübner: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 592 (1937). — [3] Vollmer u. Giebel: Ebenda **190**, 522 (1938). — [4] Jaretzky u. Neuwald: Ebenda **192**, 586 (1939).

Meinung sind wir aus zwingenden Gründen hinsichtlich der angeblichen Wirkungslosigkeit der Dekokte, die im übrigen in der neuen Arbeit von J. und N. gar nicht zur Erörterung steht.

Es wurde von uns keineswegs beanstandet, daß J. und N. die Widersprüche hinsichtlich der Wirkung der Dekokte nicht diskutiert haben, sondern lediglich, daß unsere und anderer Autoren Befunde bei der Behauptung einer Wirkungslosigkeit der Dekokte völlig unberücksichtigt gelassen wurden.

Im übrigen sei erwähnt, daß V. und G. sehr viel wesentlichere Abweichungen gegenüber der Arbeit von V. und H. erörtern, als den im übrigen deutlich erkennbaren in der Beeinflussung der Harnmenge durch die Dosis 0,5, den J. und N. offenbar für wichtig halten. Auch geht die Wirkungslosigkeit dieser Dosis bei zwei anderen als der endgültig verwendeten Droge nicht aus anderen Aufzeichnungen in der gleichen Arbeit hervor, sondern dieser Befund wird an der fraglichen Stelle ausdrücklich durch eine Fußnote hervorgehoben. Es wird also völlig unberechtigt der Eindruck erweckt, als müßten uns erst J. und N. auf Differenzen zwischen unseren, in verschiedenen Jahren erhobenen Befunden aufmerksam machen. Diese Differenzen stören unsere prinzipiellen Betrachtungen nicht im geringsten. Außerdem sollte es gerade pharmazeutisch und pharmakognostisch geschulten Autoren geläufig sein, daß Drogen verschiedener Jahrgänge, Provenienz oder Alters gar nicht selten Wirkungsunterschiede aufweisen. Die in jeder Hinsicht sachliche Stellungnahme von V. und G. zu den Befunden von J. und N. erfolgte in der Annahme einer derartigen Möglichkeit.

J. und N. gehen der Schwierigkeit der Erörterung aus dem Wege, indem sie [4] unsere Methode als unzulänglich und unsere Tierzahl als zu klein bezeichnen.

Tierzahl: Wir verfügen in der älteren Arbeit über je fünf Versuche mit den Dosen 250, 500 und 1000 mg/Tier, in der neueren über je 7 Tiere bei den Dosen 65 und 125 mg, 12 Tiere bei 250 mg, 36 Tiere bei 500 mg (drei Drogen) und 8 Tiere bei 1000 mg (insgesamt 85 Versuche). Zu dieser großen Tierzahl kommt dann noch die Tatsache, daß wir an unsere Befunde Maßstäbe der Statistik anlegen. Auch bei den Kollektiven mit relativ wenig Tieren genügt die Differenz zwischen der durchschnittlichen Harnmenge des Drogenversuchs und dem Normalwert fast immer, bei den Dosen von 65—250 mg stets den Bedingungen der Statistik. Darüber geben unsere Tabellen in nicht zu übersehender Weise Aufschluß. Die Behauptung einer zu geringen Tierzahl in unserem Ononismaterial ist nur möglich, wenn man die wissenschaftlichen Methoden der Versuchsauswertung ignoriert.

Zur Methodik.

Die Tatsache, daß wir statistisch eindeutige Befunde erhielten, zeigt die Brauchbarkeit unserer Versuchsanordnung. Hinsichtlich der Verwendung verschieden großer Tiere und der Flüssigkeitsdosierung nicht nach dem Gewicht sondern pro Tier sei auf die Ausführungen von V. und G. verwiesen. Außerdem findet sich bei uns die Angabe, daß die an den gleichen Versuchstagen angesetzten Tiere gleich schwer waren, ferner bei V. und H. der zahlenmäßige Beleg dafür, daß wir zunächst die Kontrollversuche für die einzelnen Drogen zusammenfaßten und erst zu einem Normalwert vereinigt haben, nachdem das Fehlen von verwertbaren Unterschieden dabei festgestellt worden war [5].

J. und Mitarbeiter beobachten die Harnausscheidung bereits in der ersten Stunde nach der peroralen Verabfolgung, ferner die Verhältnisse

[5] Im übrigen wurde von uns an anderer Stelle (Vollmer u. Hindemith[11], S. 572, Fußnote) darauf hingewiesen, daß bei Mäusen Gewichtsunterschiede eine Rolle spielen.

nach 4 Stunden, während wir bei unseren Rattenversuchen nur den 4-Stunden-Wert berücksichtigen. Zwar haben wir verschiedentlich beobachtet, daß die mit Drogen behandelten Tiere früher Harn liefern als die Wassertiere. Da hier aber Unterschiede in der Flüssigkeitsresorption eine Rolle spielen können, haben wir bewußt von einer systematischen Verfolgung dieser Beobachtung abgesehen. Außerdem stehen wir auf dem Standpunkt, daß eine stärkere diuretische Wirkung nicht schon innerhalb von 4 Stunden wieder ausgeglichen sein sollte (s. Zahlen bei J. und N. [4]).

Prinzipiell besteht folgender Unterschied zwischen der von J. und von uns angewendeten Methodik. Wir setzen am gleichen Tage Wassertiere und Drogentiere an, die später, aber erst nach einem Zwischenraum von mindestens 8 Tagen, wieder zum Diureseversuch verwendet werden. J. und seine Mitarbeiter dagegen prüfen an aufeinanderfolgenden Tagen so, daß sie entweder einigen Wassertagen einige Drogentage folgen lassen oder daß sie nach Art des bei Burn[6] für andere Methoden geschilderten Kreuztestes vorgehen. Dabei wird die tägliche Futterportion konstant gehalten. Diese Verfahren können Fehler bedingen, auf die hingewiesen werden soll. Ob diese Fehler bei den Untersuchungen von J. eine Rolle spielen, ist für die Erörterung belanglos, da wir ja nicht die Angabe einer Wirkung flüchtiger Ononisanteile bezweifeln.

Bei J. erhalten die Tiere eine konstante Diät über Tage. Sie haben also keine Gelegenheit, ein während der Versuche entstehendes Wasserdefizit auszugleichen. Da an den einzelnen Versuchstagen nur über 4 Stunden geprüft wird, besteht keine Möglichkeit zur Feststellung eines solchen Defizits, das auch an den Wassertagen auftreten kann (Wasserstoß). Bei den Drogentagen ist ein solches Defizit nicht unwahrscheinlich. Wenn J. und N. in der älteren Arbeit am 1. Drogentage (Ononisdestillat) nach 45, 60 und 240 Minuten Harnvermehrungen gegenüber den Wassertagen von 51, 34 und 14%, im Durchschnitt von vier aufeinanderfolgenden Drogentagen dagegen Harnvermehrungen von nur 20, 8 und 7% feststellen, so ist die Schlußfolgerung einer „Gewöhnung der Niere" keineswegs berechtigt. In diesem Versuch (1, Tabelle 2) ist im übrigen die Harnabsonderung am 1. Wassertage in der 1. Versuchszeit erheblich geringer als an den folgenden Wassertagen, ein Befund, der die Angabe von Bonsmann und Brakhage[7] bestätigt, daß Mäuse im ersten Versuch oft trägere und geringere Harnproduktion aufweisen.

Ein analog zu unserer Versuchsanordnung gewähltes Vorgehen, die Tiere nach dem Versuch beliebige Mengen fressen und trinken zu lassen und sie dann 14 Stunden nüchtern zu setzen, wäre somit zweckmäßiger. Trotzdem verwenden wir die Tiere frühestens nach 8 Tagen wieder, weil wir die Möglichkeit einer längerdauernden Wirkung erwägen.

[6] Burn: Biologische Auswertungsmethoden. Berlin 1937. — [7] Bonsmann u. Brakhage: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **174**, 453 (1934).

Tabelle 1. Wirkung einer einmaligen subcutan

Tier Nr.	Normaltage					Tage nach Injek	
	1	2	3	4	5	1	2
1	17,5	18,0	17,5	17,0	17,0	18,0	23,5
2	16,5	15,0	15,5	14,0	19,0	15,0	21,0
3	20,5	19,0	15,0	16,5	16,5	18,5	23,0
4	20,0	14,5	18,0	18,0	18,5	16,0	23,0
5	18,0	20,0	20,0	18,5	18,0	19,5	22,0
6	12,5	9,5	10,0	11,0	12,5	13,0	21,0
Durchschnittswerte, Tier 1—6: Tag 1—5: 16,5 ± 0,53						16,7 ± 0,91	22,3 ± 0,41
Differenzen gegenüber Normalwert.....						+ 0,2 ± 1,05	+ 5,8 ± 0,67
Änderung in %.....						—	+ 35,2

Tabelle 2. Wirkung einer einmaligen subcutanen Injekti
Versuch an einer Grup

	Normalwert K, N und Cl in Millimol.	Differenzen gegenüber Normalv		
		1. Tag	2. Tag	3. Tag
Harnmenge	13,2 ± 0,11 (54 Werte)	+ 4,2 ± 1,18	+ 3,6 ± 1,06	+ 7,1 ± 1,18
Harn-Cl ...	0,71 ± 0,012 (93 „)	− 0,07 ± 0,09	− 0,13 ± 0,05	+ 0,32 ± 0,15
Harn-K ...	0,69 ± 0,026 (76 „)	− 0,11 ± 0,1	+ 0,29 ± 0,47*	+ 0,23 ± 0,07
Harn-Na ..	0,36 ± 0,014 (88 „)	+ 0,2 ± 0,49*	− 0,07 ± 0,13	+ 0,24 ± 0,13

* Die hohen Streuungen erklären sich aus verschiedener Reaktion der einzelnen Tiere auf h werden, wenn gleichsinnige Veränderungen an benachbarten Tagen auftreten. Die Berechtigung dazu wu

Die Annahme einer längerdauernden Wirkung ist nach neuen, in ganz anderem Zusammenhang in langfristigen Bilanzversuchen an Ratten erhobenen Befunden durchaus nicht unwahrscheinlich[8]. So erfolgt die Einstellung des Mineralstoffwechsels ins Gleichgewicht beim Übergang auf bestimmte Diäten sehr langsam und nicht ohne Schwankungen. Einmalige Injektionen von Coffein oder von kleinen Flüssigkeitsmengen bedingen Änderungen der Harnmenge und der Mineralausscheidung über Tage.

Die Tabellen 1 und 2 stellen diese Verhältnisse für die Wirkung des Coffeins an Hand zweier Versuchsgruppen aus unserem großen Material dar. Die Tabelle 1 bringt Einzelwerte (Harnmenge) für 6 Tiere 5 Tage vor und 7 Tage nach einer Injektion von Coffein, ferner Durchschnittswerte, Differenzen und Änderungen in %. Die Harnvermehrung vom 2. bis mindestens zum 5. Tage nach der Coffeingabe ist eindeutig. Daß diese Wirkung nicht nur die Harnmenge sondern auch die Mineralstoffe betrifft, zeigen die Durchschnittswerte der Tabelle 2. Da die Verhältnisse bei den einzelnen Coffeindosen nicht gleichartig sind, da außerdem an den ersten 3 Tagen Wirkungen der Injektion an sich berücksichtigt werden müssen,

[8] Vollmer u. Mitarbeiter: Untersuchungen aus den Jahren 1937—1939. Die ersten Berichte siehe in diesem Band.

Injektion von Coffein auf die Harnmenge.

von 5 mg/100 g Coffein				
3	4	5	6	7
22,5	22,5	20,5	19,5	21,0
19,5	18,0	18,5	17,5	16,0
21,5	20,0	22,0	18,0	17,0
20,5	21,0	20,0	19,0	18,0
22,0	20,5	18,0	16,0	18,0
18,0	17,0	18,0	17,0	16,0
20,7 ± 0,63	19,8 ± 0,75	19,5 ± 0,6	17,8 ± 0,48	17,7 ± 0,7
+ 4,2 ± 0,83	+ 3,3 ± 0,92	+ 3,0 ± 0,8	+ 1,3 ± 0,72	+ 1,2 ± 0,88
+ 25,5	+ 20,0	+ 18,2	+ 7,9	+ 7,3

von Coffein auf Harnmenge, Harn-Cl, Harn-K und Harn-Na. von sechs Ratten.

nach 10 mg/100 g Coffein			Änderung in %					
4. Tag	5. Tag	6. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag
+ 5,7 ± 0,6	+ 6,0 ± 1,36	+ 3,8 ± 1,46	+31,8	+27,4	+53,8	+43,9	+45,5	+28,8
+ 0,14 ± 0,03	+ 0,18 ± 0,08	+ 0,03 ± 0,03	—	−18,3	+45,1	+19,7	+25,4	—
0 ± 0,05	0 ± 0,11	− 0,04 ± 0,05	−15,9	—	+33,3	—	—	—
+ 0,09 ± 0,02	+ 0,13 ± 0,06	− 0,06 ± 0,05	—	—	+66,7	+25,0	+36,1	−16,7

Coffeindosen. — ** Auch Werte, die innerhalb des Dreifachen ihrer Streuung liegen, können bewertet mit Hilfe der Wahrscheinlichkeitsrechnung sichergestellt.

kann aus den Zahlen der Tabelle 2 nicht ohne weiteres die Coffeinwirkung auf den Mineralstoffwechsel abgeleitet werden. Darüber werden unsere diesbezüglichen Arbeiten Aufschluß geben. An dieser Stelle soll lediglich demonstriert werden, daß eine einmalige Coffeininjektion Harnmenge und Ausscheidung von Mineralstoffen über Tage beeinflußt. Das zeigt auch die Tabelle 2 völlig eindeutig. Der Hinweis auf den Mineralstoffwechsel in diesem Zusammenhang ist deswegen wichtig, weil Änderungen im Mineralhaushalt Änderungen im Wasserhaushalt zur Folge haben, und weil unsere Versuche mit pflanzlichen Diuretica sehr erhebliche Steigerungen der Cl-Ausscheidung ergeben hatten.

Daß man an langdauernde Prozesse auch bei anderen Pharmaca denken muß, kann aus einer Arbeit von Balansard und Raybaut[9] geschlossen werden. Hier trat nach Injektion einer Zubereitung von Smilax aspera (Provence-Sarsaparille) an drei Folgetagen die diuretische Wirkung erst am zweiten und dritten Tage auf. Eine Wirkung der Erstinjektion am zweiten Tage wäre also nicht auszuschließen.

Prinzipiell halten wir einen längeren Versuchsabstand für unbedingt erforderlich. Ebenso wesentlich ist nach unseren Erfahrungen, daß Drogen-

[9] Balansard u. Raybaut: C. r. Soc. Biol. **129**, 305 (1938).

und Wasserversuche mit verschiedenen Tieren am gleichen Tage angesetzt werden. Es können Diureseversuche an verschiedenen Tieren am gleichen Tage geringere Unterschiede ergeben als Versuche an den gleichen Tieren an verschiedenen Tagen. Zu ähnlichen Ergebnissen kam Marx[10]. Als ein Beispiel zeigt die Abb. 1 die Änderung der durchschnittlichen Tagesharnmenge zweier Gruppen von je 5 Ratten bei Änderung der Temperatur des Versuchsraumes.

Beim Kreuztest in der Form, wie er in einem Teil der Versuche von J. und N. durchgeführt wird, würde die Forderung der gleichzeitigen Prüfung im Wasser- und Drogenversuch erfüllt sein. Nicht erfüllt aber ist die Notwendigkeit eines längeren Versuchsabstandes. Bei Burn ist im übrigen eindeutig zum Ausdruck gebracht, daß der Kreuztest nur dort in

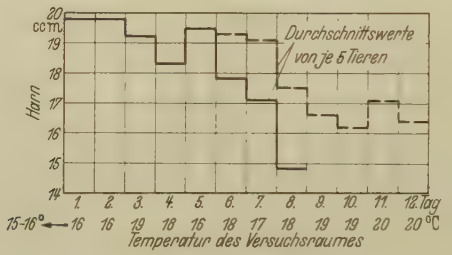


Abb. 1. Änderung der Tagesharnmenge bei Änderung der Temperatur im Versuchsraum. Bei der durch die gestrichelte Linie dargestellten Versuchsgruppe können die Werte der Tage 1 -5 nicht verwendet werden, da die Tiere noch unter Coffeinwirkung standen.

Frage kommt, wo die Art des Versuches es gestattet. Hinsichtlich des Versuchsabstandes ist lediglich beim Insulin eine Wiederholung am Folgetage angegeben, bei der Auswertung von Ovarialhormon ein Abstand von 8 Tagen, bei der Prüfung der antidiuretischen Wirkung von Hypophysenhinterlappenextrakt ein Abstand von 2—3 Tagen.

Wir kommen somit auch auf Grund der geschilderten ganz andersartigen Versuche auf unsere Versuchsanordnung als am besten geeignet zurück. Natürlich würde die Prüfung im langfristigen Bilanzversuch bei ausgeglichener Mineralbilanz das beste Verfahren sein. Als Test für die Beurteilung mehrerer Diuretica wäre dieses Verfahren zu umständlich. J. und N. berücksichtigen extrarenale Faktoren der Diuresewirkung, d. h. die Möglichkeit einer längerdauernden Wirkung gar nicht. Gerade diese letzte Tatsache zeigt, daß für die Beurteilung pharmakologischer Versuche oft nicht nur die Kenntnis einer einfachen Versuchsanlage (Diureseversuch), sondern eine Kenntnis der physiologischen Grundlagen derselben erforderlich ist.

[10] Marx: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **173**, 526 (1933).

Zur Wirkung des Ononisdekoktes und der Herba equiseti.

Wir haben — wie ausgeführt — in unseren Rattenversuchen eine diuretische Wirkung des Ononisdekoktes eindeutig festgestellt. In der neuen Arbeit von J. und N. wird aber verschwiegen, daß von uns [11] fernerhin Versuche an 27 Kaninchen und an 44 Mäusen durchgeführt wurden, die ebenfalls eine diuretische Wirkung der Dekokte ergaben. Da die Verhältnisse bei den einzelnen Drogen hinsichtlich der Wirkung auf verschiedene Tierarten nicht völlig parallel gehen, wurde für eine eingehende Untersuchung pflanzlicher Diuretica die Prüfung an verschiedenen Tierarten als notwendig bezeichnet [12]. Zum mindesten aber ist es nicht angebracht, daß J. und N. solche Versuche bei ihrer Schlußfolgerung unbeachtet lassen.

Ähnlich liegen die Verhältnisse bei einer Arbeit von Breitwieser [13] aus dem Institut Jaretzkys. Hier wird auf Grund negativ verlaufener Versuche mit Equisetumzubereitungen und Equisetumsaponin geschlossen, daß die Herba equiseti keinen organischen Inhaltsstoff mit spezifisch diuretischer Wirkung enthalten. Dem Verfasser ist offenbar entgangen, daß wir [11] die Bedeutung des Drogenchlors für die Wirkung auf Grund von Experimenten erörtern. Ferner ergaben Rattenversuche nicht nur bei Herre [14], sondern auch bei uns [2] ein positives Ergebnis. Allerdings war nur die Steigerung der N-Ausscheidung völlig eindeutig, die Steigerung der Harnmenge zum mindesten wahrscheinlich. Man kann also weder auf der einen Seite auf Grund von Rattenversuchen die Abwesenheit einer diuretisch wirkenden organischen Substanz einwandfrei behaupten noch auf der anderen Seite die positiven Befunde am Hund (Kreitmair [15]) und an Kaninchen und Mäusen [11] für nicht ohne weiteres mit den Rattenversuchen vergleichbar halten.

Auch wenn unsere Rattenversuche negativ ausgefallen wären, hätten wir die Befunde an Kaninchen und Mäusen als einen Nachweis der Wirkung bewertet. Bei dem augenblicklichen Stand unserer Kenntnis kommt es darauf an, überhaupt einmal eine Wirkung nachzuweisen, Anhaltspunkte über die Wirkungsbreite zu gewinnen und dem Kliniker eine Grundlage für die erforderliche Prüfung am Krankenbett zu schaffen. Unsere Versuche haben, auch durch die Berücksichtigung der Ausscheidung von N und Cl, darüber hinaus einen gewissen Vergleich der geprüften Drogen ermöglicht.

Zusammenfassung.

1. Es wird die Methodik der Prüfung auf diuretische Wirkung erörtert. An Hand einiger Versuche mit Coffein wird gezeigt, daß Wirkungen über mehrere Tage möglich sind und dementsprechend die einzelnen Tiere nur in größeren Abständen zum Versuch verwendet werden können.

2. Die Äußerungen von Jaretzky und Neuwald über die Diureseversuche von Vollmer und Mitarbeitern sind sachlich unbegründet.

3. Die diuretische Wirkung von Ononisdekokten und der Herba equiseti ist eindeutig festgestellt.

[11] Vollmer u. Hindemith: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 565 (1937). — [12] Vollmer: Ebenda **186**, 584 (1937). — [13] Breitwieser: Arch. Pharmaz. usw. **277**, 53 (1939). — [14] Herre: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 710 (1937). — [15] Kreitmair: Mercks Jahresbericht **50**, 108 (1937).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Das Verhalten der Kapillaren in der Umgebung des Blutegelbisses*.

Von

Bruno Artur Lindemann.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. August 1939.)

I. Einleitung.

Magnus[1,2] sah zuerst im kapillarmikroskopischen Bilde den normalen Reflexmechanismus der Kapillaren in der Nähe des Blutegelbisses gestört.

Aus der Frage nach der Ätiologie dieser Funktionsänderung der Kapillaren ergab sich die Aufgabe, die Kapillaren in ihrem Verhalten in der Umgebung des Blutegelbisses einmal besonders zu studieren.

Wenn auch das Blutegelbißphänomen viele Untersucher gefunden hat, so haben doch die Beobachter ihr Augenmerk zu sehr auf das Hirudin und die damit zusammenhängende Blutgerinnungsfrage gerichtet. Wie die nachfolgenden Untersuchungen zeigen werden, kann man die Reaktion des Gewebes auf den Biß nicht vom mechanischen Insult des Bisses oder vom Hirudin allein aus erklären.

Die Untersuchung des Ablaufes der örtlichen Reaktion der Kapillaren auf den Riß spitzte nun das Problem in der Form zu, daß sich folgende Fragen darboten:

Kann man aus dem mechanischen Insult allein die Reaktion erklären, oder wirkt Hirudin auf die Kapillaren, oder wird neben dem Hirudin ein anderer auf die Kapillaren wirkender Stoff freigesetzt, sei es vom Blutegel selbst oder sekundär im Gewebe?

II. Methodisches.

Folgende Prozeduren und Untersuchungsmethoden wurden angewandt:

1. Herstellung von Blutegelextrakten.
2. Gewinnung von Blutegelsekret.
3. Kapillarmikroskopische Studien am Blutegelbiß:
   a) Frosch,
   b) Kaninchen,
   c) Mensch (Selbstversuch).
4. Mikroskopische Untersuchung von Gewebe mit Blutegelbissen (nach Fixation).

* D 11.

5. Durchströmungsversuche:
   a) an isolierten Kaninchenlöffeln,
   b) an isolierten Hundepfoten,
   c) am Laewen-Trendelenburgschen Froschpräparat.
6. Austestung von Blutegelextrakten und Sekret am isolierten Meerschweinchendarm in Tyrode- und atropinhaltiger Tyrodelösung.
7. Mechanische Insulte nach Art eines Blutegelbisses.
8. Subcutane Injektion von frischen Blutegelextrakten und Hirudin in Kaninchenlöffel.
9. Messung der Blutgerinnungszeiten verschiedener Blutproben in einer feuchten Kammer.

Die Durchströmungskurven wurden mit einem nach Druckrey konstruierten Tropfenzähler registriert.

Das Kapillarmikroskop stellte mir freundlicherweise die Firma Leitz, Berlin, Luisenstraße, zur Verfügung.

Die Blutegel wurden von Schween u. Schröder, Hamburg, und das Hirudin von der Firma Dr. Holborn u. Söhne, Leipzig, bezogen.

III. Herstellung von Extrakten.

Die obersten Kopfringe des Blutegels Hirudo medicinalis wurden mit einem Scherenschlag vom übrigen Rumpf getrennt. Stets wurden 5 Egel für ein Extrakt verwandt. Die Kopf- und Körperteile wurden gesondert mit gereinigtem Meersand zerrieben, oder — was sich noch als besser herausstellte — mit flüssiger Luft vereist und im Mörser zerschlagen, dann mit 0,6%iger NaCl-Lösung versetzt und filtriert. Pro 0,1 g Gewicht wurde 1 ccm 0,6%ige NaCl-Lösung zugesetzt. Die so gewonnenen Kopf- und Körperfiltrate sind auf wirksame Bestandteile untersucht worden.

Mit Absicht sind die in der Literatur angegebenen Extraktionsmethoden nicht angewandt worden, da das Extrahieren im Brutschrank sehr leicht durch fermentative Spaltung oder durch bakteriellen Abbau Produkte entstehen läßt, die die Untersuchung gefährden.

Blutegelextrakt birgt nach ein paar Tagen Brutschranktemperatur toxisch wirkende Stoffe in sich, die z. B. die Prüfung am isolierten Meerschweinchendarm sehr erschweren. Der Darm erleidet eine mortale Kontraktur, die sich nur schwer löst. Hinterher spricht er nicht mehr auf Histamin an.

Zwar kann man mit den von mir verwandten Extraktionsmethoden bei weitem nicht die Gesamtmenge der wirksamen Bestandteile gewinnen, doch können sie so qualitativ sehr gut nachgewiesen werden.

IV. Gewinnung von Sekret.

Erst der Nachweis eines kapillarwirksamen Stoffes im Sekret würde das aufgestellte Problem vollends klären. Die Methode zur Sekretgewinnung ist

etwas problematisch. Anscheinend muß man einen genau abgestimmten adäquaten Reiz haben, um beim Blutegel einen Sekretfluß zu erzeugen.

Zuerst ging ich von dem Gedanken aus, daß die Blutegel vielleicht reflektorisch mit dem Anbeißen ihr Sekret ausspritzen würden. Ich versuchte, die Egel auf einer aufgespannten Froschhautmembran, die mit Aqua dest. unterspült war, zum Anbeißen zu bringen.

Aber sie bissen schlecht und ungern an, und im Spülwasser konnte ich keinen wirksamen Stoff nachweisen. Dann habe ich es auf folgende Art versucht: Die Blutegel wurden zwischen zwei Klemmen gehalten und ihr Kopfende dauernd mit einer Pipette abgesogen, die in physiologischer Kochsalzlösung ausgespült wurde. Der beigemengte Verdauungsschleim der Egel in der Spülflüssigkeit wurde abfiltriert. Das gewonnene Filtrat opaleszierte. Etwa 5 ccm isotonische Kochsalzlösung diente als Spülflüssigkeit für 10 Blutegel.

V. Kapillarmikroskopische Studien am Blutegelbiß.

a) Frosch (rana esculenta).

Die Froschmuskelhaut erwies sich für die mikroskopische Beobachtung nicht als sehr geeignet. Der Blutegel biß sich sehr schnell durch und hörte dann auf zu saugen. Immerhin war es möglich, bestimmte Feststellungen zu machen.

Betrachtete man einen frischen Blutegelbiß auf der Froschschwimmhaut unter dem Mikroskop, so sah man maximal gefüllte und geweitete Gefäße und Kapillaren im ganzen Blickfeld um den Biß. Das ganze Gefäßnetz war an dem reaktiven Vorgang beteiligt. Außerdem war das Gewebe um die Bißwunde zum Teil mit Blut infiltriert. Große perivasculäre Infiltrate umsäumten die Bißwunde.

Narkotisierte man einen Frosch mit 1 ccm einer 25%igen Urethanlösung, biß der Blutegel wohl an, saugte aber schlecht.

Injizierte man einem solchen Frosch Blutegelkopfextrakt subcutan in die Nähe des Blickfeldes, so konnte man geringe kapilläre Erweiterung feststellen, obwohl Urethan selbst schon beim Frosch die Kapillaren erweitert (Injektionswirkung?).

Wenn jedoch auf das Blickfeld Blutegelkopfextrakt getropft wurde, änderte sich nichts. Die Gefäßreaktion blieb aus. Ein Tropfen geringer Adrenalinkonzentration ließ einen Teil der Kapillarschlingen sofort verschwinden, und nur noch in größeren Gefäßen sah man, wie der Blutstrom sich mühsam hindurchzwang. Eine Lähmung der Gefäße und Kapillaren bestand also keinesfalls.

b) Kaninchen.

Katzenohren eigneten sich wegen der starken Ohrpigmentierung weniger für diesen Versuch.

Am Kaninchenlöffel ließen sich die Kapillaren sehr schön beobachten. Störend machte sich nur die durch die Erregung wechselnde Blutfülle des Ohres bemerkbar.

Das Tier wurde ohne Narkose aufgebunden, nachdem die Ohren ein paar Tage vorher vorsichtig rasiert und gesäubert wurden. Die Haut wurde zur Steigerung der Transparenz der epidermalen Schicht mit Cedernöl betupft.

Die Untersuchung ergab schon makroskopisch im durchfallenden Licht, daß das Maximum der Bißreaktion etwa mit 24 Stunden erreicht war. Während des Saugens war makroskopisch außer wechselnder Blutfülle des Ohres nichts zu bemerken. Fiel der Blutegel ab, so sah man deutlich ein saugkopfgroßes Hämatom. Aus der Wunde floß lange noch Blut. Komprimierte man die Bißwunde, so ließ sich das Hämatom momentan zum Verschwinden bringen.

Interessant war, daß man einen abgeschnittenen Kopf eines Blutegels nur schwer zum Anbeißen bringen konnte. Hatte aber der Blutegel erst angebissen und schnitt man ihm dann während des Saugens mit einem Scherenschlag den Rumpf ab und riß den noch saugenden Kopf von der angebissenen Stelle wieder los, so ließ sich der Kopf beliebig irgendwo ansetzen; er biß sofort an. Der einmal gewiesene Impuls zum Anbeißen mußte anscheinend erst dasein.

Es ließ sich nun zeigen, daß die 24-Stunden-Gewebsreaktion auf den Biß unabhängig war von der Dauer des Saugens, und daß gleichfalls nur das Anbeißen des Kopfes ohne Rumpf genügte, dieselbe typische Art von Bißreaktion hervorzurufen.

Es wurden 4 Arten von Blutegelbissen nach der Dauer des Saugens untersucht: Einmal wurde ein abgeschnittener Kopf 10 Minuten angesetzt. Bei der zweiten Bißform wurde der Egel nach 15 Minuten zum Abfallen gebracht und die Bißstelle sofort komprimiert. Bei der dritten Form schnitt ich dem Egel beim Saugen den Rumpf ab, die Saugdauer betrug hier 20 Minuten, und schließlich noch ein normaler Biß, der Blutegel sog hier 45 Minuten bis zum spontanen Abfall.

Die Stärke der Sofortreaktion des Gewebes auf den Biß war unabhängig von der Bißform und stieg proportional mit der Dauer des Saugens, aber nach 24 Stunden ergab sich bei den Bißformen 1, 3, 4 das gleiche Bild: saugkopfgroßes Hämatom mit diffuser perifocaler entzündlicher Hyperämie. Nur bei der 2. Bißform schien die reaktive Entzündung nach 24 Stunden verstärkt. Das ist nur dadurch zu erklären, daß die Bißstelle sofort komprimiert wurde. Hier kann es durch die verhinderte Nachblutung nicht zu einem Herausschwemmen des Sekrets kommen.

Mikroskopisch ergab sich etwa folgendes Bild:

1. Einstellung des Normalbisses sofort nach dem Abfall des Blutegels. Aus der Wunde sickerte Blut; man sah deutlich eine saugkopfgroße Röte des Untergrundes (durchscheinendes Hämatom). Um den Biß folgte eine Zone von einem halben Zentimeter mit fast verschwundenen Kapillaren, dann erweiterte bis normale Kapillaren (vielleicht drückt die Spannung der Haut durch das Hämatom, welches deutlich als Knopf zu tasten ist, die Kapillaren zusammen?).

2. Nach 4 Stunden. Die Bißwunde war durch geronnenes Blut verklebt. Deutlich sichtbare Rötung der Haut. Kapillaren unmittelbar am Biß erweitert, dann folgte die perifocale Zone der Verengerung und darauf normale Kapillarbilder.

3. Nach 24 Stunden. Man sah, soweit die Rötung um den Biß reichte, maximal geweitete Kapillaren, gefüllt mit stagnierendem Blut. Kapilläre Erweiterung und Stase dominierte, nur ab und an sah man eine pulsierende normale Kapillare.

c) Beobachtungen im Selbstversuch.

Der verwandte Finger oder Arm wurde vorher gründlich gereinigt und die Beobachtungsstelle vor dem Mikroskopieren gleichfalls mit Cedernöl benetzt.

1. Beobachtung direkt nach dem Abfall des Blutegels am linken Zeigefinger in der Höhe des zweiten Phalangealgelenkes. Die Bißstelle blutete. Man sah um den Biß eine diffuse straßenförmige Rötung (Erweiterung des subpapillären Plexus), doch in etwa $^1/_2$ cm Entfernung von dem Biß keine Hautkapillare, weiter außen wieder erweiterte bis normale pulsierende Kapillarschlingen.

Nach 3 Stunden hatte sich das Bild noch nicht verändert. 24 Stunden später war die Bißstelle etwas erhaben. Es bestand starker Juckreiz. Beim Kratzen bildete sich eine anämische Quaddel.

Nach 3 Tagen war der ganze Finger angeschwollen. Lymphangitis mit cubitaler Drüsenschwellung hatten sich entwickelt. In 3 Tagen darauf klang der Prozeß ab.

2. Blutegelbiß am linken Unterarm. Makroskopische Beobachtung. Während des Saugens war eine zweimarkstückgroße Rötung deutlich sichtbar. Danach bestand im Umfange des Saugkopfes livide Verfärbung der Haut. Auch war die Bißstelle etwas erhaben. Nach 1 Tag hatte sich eine handtellergroße Schwellung und Rötung des Unterarmes mit diffusen Rändern und starkem Juckreiz gebildet, mit etwas geschwollenen Drüsen in der Axilla. Nach 2 Tagen blieb die fleckige Röte und Schwellung noch bestehen, ebenso der starke Juckreiz. Eine deutliche Hitze der Stelle war spürbar.

VI. Mikroskopische Untersuchung von Blutegelbissen.

Verwandt wurden 24 Stunden alte Blutegelbisse am Kaninchenlöffel. Die Ohren wurden abgenommen und nach der üblichen Art und Weise histologische Präparate hergestellt (Formalin, Alkohol, Paraffin; Färbung: Hämalaun-Eosin).

Man sah im mikroskopischen Bilde deutlich hier und da strotzend gefüllte Gefäße und weite Kapillaren. Sonst war die Cutis bis zur Knorpelplatte aufs dichteste mit Erythrocyten infiltriert. Ein großes Hämatom von Saugkopfgröße hatte sich zwischen Ohrknorpel und Epidermis ausgebildet. Die Epidermis wurde an dieser Stelle hervorgebuchtet.

VII. Durchströmungsversuche.

Die 4 nachfolgenden Kurven sind mit dem Tropfenzähler nach Druckrey dargestellt. Es wird mit dem Tropfenzähler, der eine Modifikation der Apparate nach Fleisch und Junkmann darstellt, auf dem Kymographion jeweils die Zeit für einen herabfallenden Tropfen registriert. Die Höhe des Ausschlags ist indirekt proportional der Tropfgeschwindigkeit.

a) Am isolierten Kaninchenlöffel.

Die dazu verwandten Kaninchenlöffel wurden einem mit Äther narkotisierten Tiere mit einem Scherenschlag vom Kopf getrennt, mit physiologischer NaCl-Lösung durchgespült und 24 Stunden auf Eis gelegt.

Apparatur.

Aus einer Mariotteschen Flasche wurde von etwa 30—45 cm Höhe gepufferte Warmblütertyrode vom p_H 7,3 durch einen Gummischlauch in eine Kühlschlange geleitet. Die Kühlschlange lag in einem mit Wasser angefüllten Glasgefäß, dessen Temperatur auf der konstanten Höhe von 21° C gehalten wurde. Von der Kühlschlange floß die Warmblütertyrode durch einen Gummischlauch zur Glaskanüle, die in die Arterie des Ohres eingebunden war. Das Ohr war auf einer etwa im Winkel von 45° schräggestellten Celluloidunterlage mit einer Stecknadel angeheftet. Die aus den angeschnittenen Venen gesammelten Tropfen wurden mit dem Tropfenzähler registriert. Durch jeweilige Höheneinstellung der Mariotteschen Flasche wurde als Ausgangswert die Tropfenzahl von etwa 30 in der Minute eingestellt. Die zu untersuchenden gefäßaktiven Stoffe wurden mittels Spritze langsam in den Gummischlauch injiziert.

Ergebnisse (Abb. 1 und 2).

Am isolierten Kaninchenlöffel bewirkten die Blutegelkopf- und Körperextrakte eine vorübergehende Gefäßverengerung. Bei ungefähr 1 ccm Kopf- und 1 ccm Körperextrakt (das entspricht 0,1 g Feuchtsubstanz)

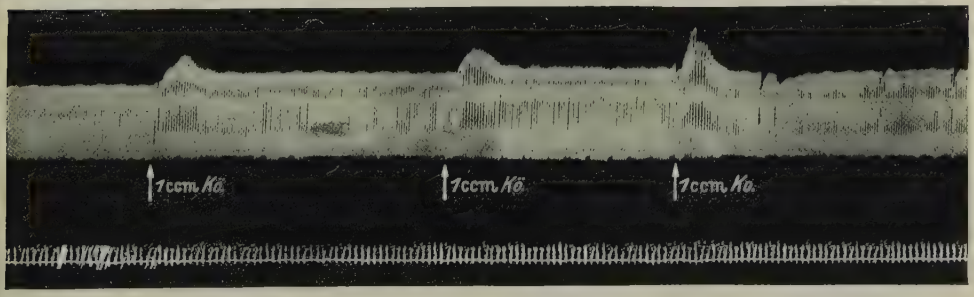


Abb. 1. Durchströmungsversuch am isolierten Kaninchenlöffel am 4. Mai 1937. Es wurden Blutegelfrischextrakte je 1 ccm Kopf- und Körperextrakt injiziert. Auf der Kurve sind deutliche Effekte zu sehen. Die Pfeile markieren den Zeitpunkt der Injektion.

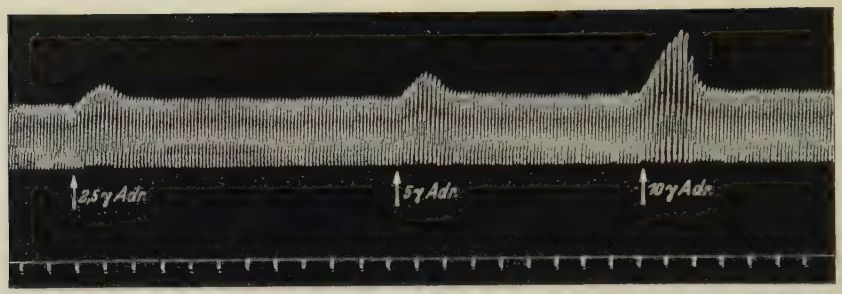


Abb. 2. Durchströmungsversuch am isolierten Kaninchenlöffel am 28. Juni 1937. Durchströmungsflüssigkeit reine Tyrodelösung. Es wurde mit Adrenalin getestet (Kontrollversuch zur Bestimmung der Ödembildung bei reiner Tyrodelösung).

waren deutliche Effekte, nämlich Abnahme der Tropfenzahl, zu verzeichnen. Sie waren reversibel. Dabei erwiesen sich die Kopfextrakte immer stärker kontraktionserregend als Körperextrakte. Vor und nach dem Versuch wurde das Gewicht der Ohren bestimmt. Nach dem Versuch waren die Ohren nicht ödemreicher als Kontrollohren nach Durchströmung mit reiner Tyrodelösung.

b) Durchströmung der isolierten Hundepfote.

Die Präparation der Hundepfote war die gleiche wie beim Kaninchenlöffel. Die Kanüle wurde hier in die Dorsalarterie eingebunden. An der sonst gleichen Apparatur wurde nur die Mariottesche Flasche auf etwa 50 cm erhöht.

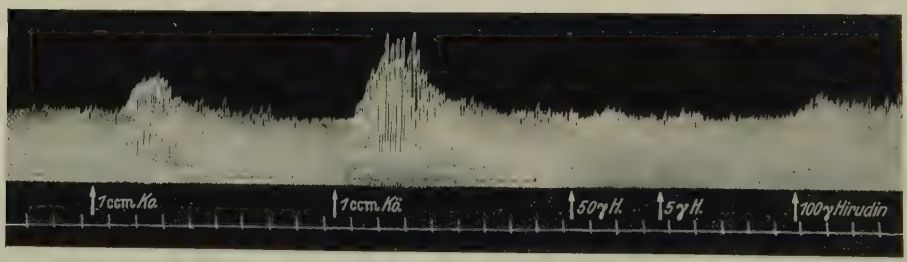


Abb. 3. Durchströmung einer isolierten Hundepfote am 24. Mai 1937. Die Blutegelextrakte haben 4 Tage auf Eis gestanden. Hirudin 100 γ in 1 ccm.

Ergebnisse (Abb. 3).

Auch hier bewirkten die Blutegelextrakte, sowohl vom Kopf als auch vom Körper, eine Gefäßverengerung reversibler Natur. Die Schwellendosis lag hier ebenfalls um 1 ccm (das ist 0,1 g Feuchtsubstanz) pro Extrakt.

Bei einem Teil der Extrakte erwies sich der Körperextrakt stärker als Kopfextrakt, in anderen Extrakten war jedoch das Ergebnis umgekehrt.

Hirudin erzielte mit einer Schwelle von 100 γ pro 1 ccm eine reversible Gefäßverengerung.

c) Präparat vom Frosch (rana esculenta) nach Laewen-Trendelenburg.

Die Präparation des Laewen-Trendelenburg-Frosches wurde in bekannter Weise vorgenommen. Die Höhe der Mariotteschen Flasche betrug etwa 15 cm, die Tropfgeschwindigkeit dabei etwa 20 Tropfen in der Minute.

Abb. 4. Froschdurchströmungspräparat nach Laewen-Trendelenburg am 25. Mai 1937. Die Blutegelextrakte haben 5 Tage auf Eis gestanden. Bei diesem Versuch sind die Extrakte auf 1 : 10 verdünnt worden. Hirudin 500 γ in 1 ccm. Auch die unverdünnten Extrakte 1 ccm Kopf und 1 ccm Körper zeigten keine deutlichen Effekte im Durchströmungsversuch.

Ergebnisse (Abb. 4).

Die Extrakte zeigten ebensowenig wie Hirudin 500 γ pro 1 ccm keine Wirkung an den Gefäßen. Die geringen Schwankungen der Tropfgeschwindigkeit, die auf anderen Kurven zu sehen waren, wiesen keine Gesetzmäßigkeit auf und waren offensichtlich auf die Injektion und ihre Begleitumstände zurückzuführen.

d) Zusammenfassung der Ergebnisse in den Durchströmungsversuchen.

In den hergestellten Extrakten überwog der unspezifische Gewebsextrakt. Eine Kapillarlähmung oder Erweiterung der Kapillaren war mit den erhaltenen Konzentrationen nicht zu erreichen. Am Frosch waren die Extrakte unwirksam, am Kaninchenlöffel und an der Hundepfote bewirkten sie nur Kontraktion.

Man könnte versucht sein, gewisse Analogien zu dem Verhalten des Histamins zu sehen. Diese Substanz ist nämlich für Froschgefäße ebenfalls unwirksam. Am isolierten Kaninchenlöffel hat man im Durchströmungsversuch nur Gefäßkontraktion erzielt. Bei den fleischfressenden Tieren allerdings trat im Durchströmungsversuch mit geeigneten Konzentrationen Kapillarerweiterung ein.

VIII. Austestung von Extrakten und Sekret am isolierten Meerschweinchendarm in Tyrode und atropinhaltiger Tyrodelösung (Methode Löffler-Guggenheim).

Die zum Testen verwandten Darmstücke wurden einem 48—72 Stunden auf Nüchternheit gesetzten Meerschweinchen entnommen. Das frische Darmstück war unten an einem mit einer doppelten Auswaschvorrichtung

versehenen, mit 20 ccm gepufferter Warmblütertyrode vom p_H 7,3 angefüllten Glaszylinder angebunden. Durch die Tyrodelösung perlten kontinuierlich Sauerstoffbläschen. Das obere Ende des Darmstückes war an einem Stirnschreiber befestigt, der die Kontraktion auf dem Kymographion registrierte. Badtemperatur konstant 39°. Atropin: 0,8 mg pro Liter.

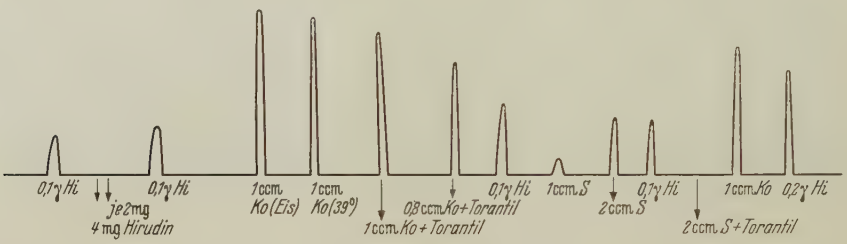


Abb. 5. 24. Juni 1937 Meerschweinchen-Darmtest (48 Stunden nüchtern), Tyrode p_H 7,3. Badtemperatur 39°. Torantilprobe 24 Stunden bei 39°.
Austestung von 4 mg Hirudin und Kopfextrakt (*Ko*), ferner Kopfextrakt (*Ko*) + Torantil am atropinisierten Meerschweinchendarm. Es wurden 2 ccm Kopfextrakt (*Ko*) und 2 ccm Sekret (*S*) mit je 1 Ampulle Torantil versetzt. Die Histamineichzacken (*Hi*) dienen zur Bestimmung der Testäquivalente. 1 ccm Kopfextrakt (*Ko*) 24 Stunden bei 39° und 1 ccm Kopfextrakt auf Eis zeigen ungefähr die gleiche Wirkung. Dieselbe Menge Kopfextrakt (*Ko*) + Torantil erfährt nur geringe Einbuße an Wirksamkeit. Die Sekretproben (*S*) mit Torantil versetzt zeigen keine Wirkung mehr am Darm.

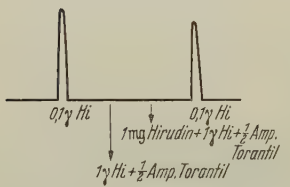


Abb. 6. Untersuchung von Hirudin und Torantilproben am atropinisierten Darm. Die Histaminasereaktion wird durch Hirudin nicht gehemmt. Es wurden 1 mg Hirudin plus 1 γ Histamin plus ½ Ampulle Torantil 24 Stunden bei 39° versetzt.

Der Versuch von Abb. 6 sollte klarstellen, ob vielleicht die im vorangehenden Versuch zu sehende verzögerte fermentative Spaltung der darmwirksamen Substanz im Kopfextrakt durch Torantil — das im Überschuß gegeben war — auf die Gegenwart des Hirudins im Kopfextrakt zu beziehen sei. Hirudin zeigte keinen inaktivierenden Einfluß auf die Histaminasereaktion.

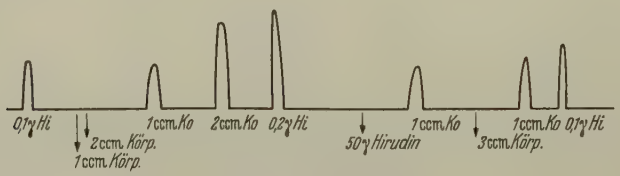


Abb. 7. Untersuchung von Kopf (*Ko*) und Körperextrakt (*Körp*) am 31. Mai 1937. Es wurde frischer Blutegelextrakt am atropinisierten Darm getestet. Hirudin 50 γ in 1 ccm zeigte keine Wirkung am Darm. Der Körperextrakt (*Körp*) ist ebenfalls unwirksam. 1 ccm Kopfextrakt (*Ko*) ist hier etwa 0,1 γ Histamin testäquivalent.

Ergebnisse (Abb. 5, 6, 7).

Der Darm gab in Tyrode und atropinhaltiger Tyrodelösung gleich hohe Kontraktionen auf die Extrakte hin. Durchschnittlich war in 1 ccm Kopfextrakt 0,1—0,3 γ testäquivalentes Histamin. Dagegen war der Körperextrakt bis zu 4,0 ccm unwirksam. Die Wirkung der Kopfextrakte wurde durch Torantil, auch im Überschuß und nach der Einwirkung von 24 Stunden im Brutschrank, nur unbedeutend gemindert.

Auffallend ist, daß der Darm nach der Einwirkung von Extrakten auf Histamin noch besser ansprach.

Das Sekret der Blutegel hatte in 1,0 ccm Testäquivalente von etwa 0,02 -0,05 γ Histamin. In manchen Proben fand sich überhaupt kein darmwirksamer Stoff. Die am Darm wirksame Substanz wurde durch Histaminase unwirksam gemacht. Im Sekret handelt es sich also höchstwahrscheinlich um Histamin. Da der Darm nach der Einwirkung von Extrakten und Sekret besonders gut auf Histamin ansprach, ist es möglich, daß die Aktivität der Histaminase des aufgespannten Darmes durch diese Substanzen eine Minderung erleidet.

Hirudin war am Darm bis zu 4 mg pro 2 ccm unwirksam. Nach Hirudin sprach der Darm ebenfalls gut auf Histamin an. Hirudin selbst bis zu 1 mg in 1 ccm hatte auf die Histaminase keinen inaktivierenden Einfluß.

IX. Mechanische Insulte nach Art eines Blutegelbisses.

Graetz (7) hat in seiner Arbeit die Saugkraft des Hirudo medicinalis bestimmt. Danach hält die Kraft, mit der der Blutegel saugt, einer Wassersäule von 1 m Höhe die Waage. Deshalb habe ich mit einer Wasserstrahlpumpe und einem zwischengeschalteten Quecksilbermanometer einen negativen Druck von etwa $^1/_{10}$ Atm. eingestellt und mit einem Saugrohr das Saugen des Blutegels nachzuahmen versucht.

Vorher wurde mit einem Skalpell eine Dreisternwunde von derselben Größe geritzt, wie sie der Egel mit seinem Kiefer setzt. Die Dauer der Saugprozedur betrug 10—60 Minuten. Währenddessen wurde die betroffene Stelle mit Hirudin und dann auch mit Hirudin und Histamin gepinselt. Die angewandten Konzentrationen waren für Histamin 1 γ je ccm, für Hirudin 1 mg je ccm. Versuchsobjekte waren Ohren von nicht narkotisierten, aufgespannten Kaninchen.

Dieses Saugen stimmt zwar mit dem des Hirudo nicht vollkommen überein, denn bei dessen Saugakt laufen fortwährend rhythmisch-peristaltische Wellen über die Kopfringe, so daß eine Art Ausmelken der Wunde zustande kommt; dennoch ist die Belastung des Gewebes etwa die gleiche.

Ergebnisse.

Mit reinem Saugen ließ sich kein Blut gewinnen. Die Wunde war bald verklebt. Nach Abnahme des Saugers war eine pfenniggroße blaßrosa Färbung der Haut sichtbar, die nach ein paar Stunden deutlicher wurde.

Die Stärke der Entzündung stieg proportional mit der Dauer des Saugens. Ein Minimum der Reaktion des Gewebes war etwa mit 10 Minuten erreicht, und das Maximum der reaktiven Entzündung etwa mit 60 Minuten.

Nach einem Tag war die reaktive Entzündung noch in der ursprünglichen Stärke zu sehen. Durch Histaminpinselung (1 γ Hi in 1 ccm) wurde die reaktive Entzündung auf das Saugen merklich verstärkt. Ein Unterschied zwischen Histaminpinselung und Histamin-Hirudinpinselung (1 mg Hirudin in 1 ccm) war nicht erkennbar.

X. Injektion von Frischpräparaten.

Frische Extrakte aus Blutegeln wurden in Kaninchenlöffel subcutan injiziert, und zwar je 1 ccm vom Kopf und 1 ccm vom Körper in das Ohr eines Tieres, und 1 mg Hirudin in 1 ccm in das Ohr eines anderen Tieres.

5 Stunden post injektionem war das Ödem des „Kopfohres" größer als die Entzündung der beiden anderen Ohren und griff auf das ganze Ohr über. Das Ohr hing schlaff herunter. Die Entzündung trug hier einen blutig-serösen Charakter.

Beim „Körperohr" hatte sich eine fünfmarkstückgroße Entzündung mit diffusen Rändern gebildet.

Die Entzündung bei dem mit Hirudin injizierten Ohr war am wenigsten ausgeprägt. Die Einstichstelle zeichnete sich durch ein kleines Hämatom aus.

XI. Messung der Blutgerinnungszeit verschiedener Blutproben in einer feuchten Kammer.

In einer mit feuchtem Filtrierpapier bedeckten Petrischale wurden bei Zimmertemperatur auf einen Objektträger in gleich große Tropfen von physiol. Kochsalzlösung und Blutegelsekret einige Tropfen Blut gebracht, deren Gerinnung durch Feststellung der Zeit bestimmt wurde, während der sie in der Schale beweglich blieben.

Ergebnisse.

Das gewonnene Sekret der Egel wurde auf Hirudin untersucht. Die Blutproben (frisches Meerschweinchenblut im Sekrettropfen) hatten alle eine verlängerte Gerinnungszeit. Noch nach 30 Minuten waren die Bluttropfen, die in einen Sekrettropfen gebracht waren, etwas beweglich.

Schnitt man bei einem Blutegel, der an einem Kaninchenohr angebissen hatte, mit einem Scherenschlag den Rumpf ab, während der Egel noch weiter sog, und fing das Blut, das aus dem Kopfende quoll, auf, so war bei der Prüfung auf seine Gerinnungszeit dieses aufgefangene Blut praktisch ungerinnbar. Dagegen hatte das aus der Bißwunde unmittelbar nach dem Abfallen des Blutegels heraussickernde Blut des Kaninchenlöffels keine verlängerte Gerinnungszeit gegenüber normalem Blut.

Wenn auch die Methode nicht sehr exakte Bestimmungen zuließ, so zeigte doch deutlich der letzte Versuch, daß die lange Blutungszeit nicht nur durch das Hirudin in der Wunde, sondern vorwiegend, wenn nicht ausschließlich, durch eine abnorme Weite der Kapillaren bedingt sei.

XII. Zusammenfassung.

In dem Kopfextrakt des Hirudo medicinalis und in seinem Sekret ließ sich neben Hirudin eine in ihrer Wirkung dem Histamin nahestehende Substanz biologisch nachweisen. Dadurch erklärt sich das Bißphänomen nicht so sehr vom Hirudin als vielmehr von den durch diese Substanz erweiterten Kapillaren aus.

Der Blutegelbiß zerfällt, zeitlich gesehen, in zwei Phasen: in die präparative Phase und in die Saugphase. In der präparativen Phase sägt der Blutegel mit seinen Kiefern eine Dreisternwunde, in die er sein Sekret gibt (hier ist es vornehmlich die H-Substanz).

Die Blutfülle und die dadurch bedingte Weite der Gefäße, die der Blutegel für sein Saugen braucht, wird mit Hilfe der H-ähnlichen Substanz erzeugt. Durch das rhythmische Saugen des Egels werden dann noch die Kapillaren besonders gedehnt, so daß ein Maximum an Lumenweite entsteht.

Ist die Bißwunde genügend vorbereitet, so beginnt die Saugphase, und erst hier hirudinisiert sich der Blutegel das ausgesaugte Blut, und das geschieht erst wahrscheinlich beim Durchtritt des Blutes durch die Schlundringe und nicht in der Wunde, wie es der Versuch bei der Prüfung der Blutgerinnungszeit zeigte.

Das Nachbluten ist dann nichts weiter als der Fortbestand der durch diese H-Substanz erzeugten Blutfülle (siehe Erweiterung des subpapillären Plexus) und Weite der Kapillaren, die unfähig sind, sich zu kontrahieren und so die Bildung eines wundverschließenden Thrombus erschweren.

Der gestörte Reflexmechanismus der Kapillaren in der Nähe des Blutegelbisses, den Magnus sah, wird höchstwahrscheinlich durch diese H-Substanz verursacht, wie auch die lymphagoge Wirkung des Blutegelbisses, die beobachtet worden ist, wohl auf die gleiche Ursache zurückgeht.

Literatur.

1) Magnus: Münch. med. Wschr. **68**, Nr. 29. — 2) Magnus: Zbl. Chir. (1928). — 3) Bottenberg: Die Blutegelbehandlung. — 4) Lee, Kap-Soo: Fol. pharmacol. jap. (1936). — 5) Mahorner, Howard R., u. Alton Ochsner: Arch. Surg. (Am.) **31** (1935). — 6) Ochsner, Alton, u. Howard R. Mahorner: Ebenda **31**, (1935). — 7) Graetz, Erich: Biol. Zbl. **54**, (1934). — 8) Reibstein, Heinrich: Zool. Jb., Abt. Anat. u. Ontog. **54** (1931). — 9) Nandris-Calugarcanu, A.: C. r. Soc. Biol. **101** (1929). — 10) Stellmacher, Willy: Jb. Morph. usw., Abt. 2: Z. mikrosk.-anat. Forsch. **13**, H. 1/2 (1928). — 11) Ducuing, J. C. Soula, Miletzky u. N. Waysbort: Sang, Jg. 2 (1928). — 12) Barratt, J. O. Wakelin: J. Physiol. (Brit.) **64** (1927). — 13) Josserand, A., u. J. Jeannin: C. r. Soc. Biol. **77** (1927). — 14) Loeffler, Lothar: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **117** (1926). — 15) Barratt, J. O. Wakelin: Brit. J. exper. Path. **7** (1926). — 16) Bodong: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **52** (1905). — 17) Schittenhelm: Ebenda **54** (1906). — 18) Schweitzer, Georg: Arch. Mikrobiol. **7**, H. 3 (1936). — 19) Zunz, Edgard, u. Marthe van Geertruyden-Bernhard: Arch. internat. Physiol. **20** (1922). — 20) Loeb, Leo, Moyer S. Fleischer u. Lucius Tuttle: J. biol. Chem. **51** (1922). — 21) Chauffard: J. Practiciens **35** (1921). — 22) Zunz, Edgard, u. v. Geertruyden-Bernhard: C. r. Soc. Biol. **84** (1921). — 23) Zunz, Edgard, u. M. v. Geertruyden: Ebenda **83** (1920). — 24) Menten, Maud. L.: J. biol. Chem. **43** (1920). — 25) Gratia, André: C. r. Soc. Biol. **83** (1920). — 26) Gratia, Andre: Ebenda **83** (1920). — 27) Franz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **49** (1903).

Aus dem Institut für Pharmakologie und Experimentelle Therapie der Universität Breslau. (Direktor: Prof. Dr. O. Eichler.)

Bemerkungen über die Methode der Adrenalinbestimmung von Whitehorn.

Von

Oskar Eichler und **Christa Noack.**

(Eingegangen am 3. August 1939.)

Die Publikation unserer Erfahrungen mit der Methode von Whitehorn[1] wurde ausschließlich angeregt durch die Bemerkung von Bomskov (Methodik der Hormonforschung), daß von anderer Seite als von Withehorn selbst keine Erfahrung mit der Methode mitgeteilt wurde. Diesem Mangel wurde derweil Abhilfe geschaffen von Shaw[2]. Trotzdem wollen wir unsere Erfahrungen mitteilen, weil sich immerhin einige neue Gesichtspunkte ergeben.

Bei der hier zur Diskussion stehenden Methodik wird Adrenalin an nach besonderer Vorschrift präpariertem Silicagel adsorbiert. Damit wird eine Trennung von anderen Substanzen erreicht (z. B. Glutathion), die auch als Reduktionsmittel das später angewandte Arsensäuremolybdatreagens bläuen. Über die Empfindlichkeit der Blaufärbung ist nichts hinzuzufügen. Die Schwierigkeiten der Methode liegen in der Adsorption. Darüber haben wir folgende Resultate erhalten.

1. Aus wässeriger Lösung wird Adrenalin nicht quantitativ adsorbiert. Ein Teil geht durch das Kieselsäurefilter hindurch.

2. Bei der sauren Auswaschung wird durch ein einmaliges Waschen nicht die gesamte Adrenalinmenge herausgebracht bei genauer Befolgung der Vorschriften von Whitehorn. Es bestehen Verluste von 50% und mehr.

3. Verwendung von Trichloressigsäure zur Eiweißfällung führt zu einer verstärkten Zersetzung des Adrenalins, d. h. die im Waschwasser und in verschiedenen Eluaten wiedergefundenen Adrenalinmengen ergeben nicht das, was hinzugegeben wurde.

4. Vorbereitung zur Extraktion nach Frowein mit HCl. Die Verluste sind noch größer. Bei Behandlung nach Frowein mit HCl-Extraktion, Aufkochen + Natriumacetat: Es wird die Gesamtmenge wiedergefunden, aber es ist mehrmaliges Auswaschen erforderlich. Die Schwankungen sind beträchtlich.

[1] Whitehorn: J. biol. Chem. (Am.) **108**, 633 (1934). — [2]) Shaw, F. H.: Biochem. J. **32**, 19 (1938).

5. Zusatz von Muskulatur als Modell organischer Substanz. Enteiweißung nach Frowein. Die vorgelegten Mengen werden gut wiedergefunden, Schwankungen allerdings 20%. Vorgelegt wurden $1-10\,\gamma$ Adrenalin.

6. Zusatz von Muskulatur, Enteiweißung mit Metaphosphorsäure, die die Oxydation von leicht oxydierbarem Vitamin C hemmen soll. Bei Adrenalin treten hier beträchtliche Verluste auf. Wir fanden nur 10%, selten bis 30% der vorgelegten Menge wieder.

7. Versuche, Adrenalin in Nebennieren von Ratten zu bestimmen. Verarbeitung nach Frowein. Gefunden wurden 1,14, 1,94, 1,17, 1,18 mg Adrenalin pro g Drüse. Die Werte sind nur $^1/_3-^1/_2$ von denen, die man erhält, wenn keine Silikatadsorption angewandt wird. In der Literatur finden wir Werte von 2,2—2,6 mg angegeben, auch bei Zusatz von Adrenalin wird bedeutend weniger gefunden als bei der Muskulatur. Offenbar muß man bei der Verwendung der Methode damit rechnen, daß oberflächenaktive Substanzen Adrenalin von der Oberfläche verdrängen. Wie bei der Muskulatur gibt hier die Enteiweißung nach Frowein relativ gute Werte. Die Enteiweißung mit Metaphosphorsäure führt auch nur zu Werten, die 10% der anderen betragen, und zwar sowohl bei Bestimmung direkt in der Drüse als mit Zusatz von Adrenalin.

Zusammenfassung.

Bei der Adrenalinbestimmung nach der Methode von Whitehorn erhält man etwa die vorgelegten Adrenalinmengen zurück mit einem Verlust von 20—30% unter der Voraussetzung, daß die Kieselsäure mehrmals mit Schwefelsäure ausgewaschen wird. Die Schwankungen sind beträchtlich. Zur Enteiweißung eignen sich nicht Trichloressigsäure, am allerwenigsten Metaphosphorsäure. Besser ist die Methode von Frowein.

Die Bestimmungsmethode ist nicht ohne weiteres auf jedes Organ übertragbar, z. B. sind die Verluste in der Nebenniere beträchtlich größer.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Frankfurt a. M.

Auswertungen von Follikelhormon-Tabletten des Handels.

Von

W. Koll und **F. Külz** *.

(Unter Mitarbeit von Dr. Margarete Koll-Schröder und Sieglinde Haase.)

(Eingegangen am 23. August 1939.)

I.

Die hier mitgeteilten Untersuchungen über die Wirkungswerte des Follikelhormons (Oestrons) in Tablettenpräparaten des Handels wurden, wie die früher von Behrens, Heubner, Koll und Külz [1] durchgeführte Prüfung wasser- und ölgelöster Präparate, auf Anregung des Reichsgesundheitsamtes vorgenommen. Die Aufgabe wurde wieder gemeinsam vom Berliner und Frankfurter Pharmakologischen Institut an verschiedenem Tiermaterial (Ratten bzw. Mäusen) und nach verschiedenen Methoden bearbeitet. Während der Untersuchungen wurden gelegentlich allgemeine Erfahrungen ausgetauscht, eine gegenseitige Bekanntgabe der Ergebnisse erfolgte erst nach Beendigung der Auswertungen. Die Untersuchungen des Berliner Instituts werden anschließend in der Arbeit von W. Heubner [2] mitgeteilt.

Die Fortschritte in der Darstellung des Follikelhormons und seiner biologischen Standardisierung haben auch zu einer merklichen Verbesserung der Handelspräparate geführt, was bereits in dem früheren Untersuchungsergebnis der wasser- und ölgelösten Präparate zum Ausdruck kam. Es erschien trotzdem gerechtfertigt, die Untersuchung auch auf die Tablettenpräparate auszudehnen, zunächst weil sich herausgestellt hat, daß auch heute noch, nach Einführung der internationalen Standardpräparate von Oestron und Oestradiolbenzoat, methodische Unterschiede des Standardisierungsverfahrens mit dem Allen-Doisy-Test an Ratte und Maus zu wesentlichen Differenzen in der Beurteilung der Wirksamkeit eines in seiner Zusammensetzung mit den Standardpräparaten nicht völlig übereinstimmen-

* Die Arbeit wurde in Ausführung eines an mich ergangenen Auftrages der Deutschen Pharmakologischen Gesellschaft unternommen und aus einer dankenswerten Zuwendung des Herrn Reichsministers des Innern unterstützt. Die experimentelle Bearbeitung und die Niederschrift lag jedoch ganz in der Hand von Herrn Koll, dessen selbständige Leistung ich bei der gegebenen Sachlage mit seinem Einverständnis auch öffentlich mit zu vertreten verpflichtet zu sein glaube. Külz.

[1] Behrens, B., W. Heubner, W. Koll u. F. Külz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 121 (1937). — [2] Ebenda **193**, 521 (1939).

den Hormonpräparates führen können, was bereits in der Arbeit von Behrens, Heubner, Koll und Külz[1] festgestellt und diskutiert wurde. Die Notwendigkeit, eine Prüfung der Tablettenpräparate vorzunehmen, schien uns auch deshalb vorzuliegen, weil einige Stichproben solcher Präparate bereits bei ganz oberflächlich orientierender Untersuchung erkennen ließen, daß für die Herstellung dieser Arzneiform in manchen Fällen wesentlich weniger gereinigte hormonhaltige Produkte Verwendung finden als wir sie bei der Prüfung der wasser- oder ölgelösten Präparate kennengelernt hatten. Daß derartige, relativ unreine Extrakte je nach der Versuchstechnik zu recht wechselnden Auswertungsergebnissen gegenüber einem reinen Standardpräparat führen können, bedarf nach den mannigfaltigen Erfahrungen, welche über den Einfluß des Resorptionsverlaufes auf die Wirksamkeit vorliegen, keiner näheren Erörterung mehr. Durch die Versuche Heubners[2] wird in eindrucksvoller Weise bestätigt, daß derartige Verhältnisse auch bei (relativ reinen) Tablettenpräparaten vorliegen.

Wir untersuchten nur Tablettenpräparate, welche allein Follikelhormon enthielten. Kombinationen mit anderen Hormonen oder anderen Pharmaca wurden nicht berücksichtigt. Ferner wurden nur Präparate mit deklariertem Hormongehalt geprüft. Die lückenlose Untersuchung sämtlicher Handelsformen war mit den verfügbaren Mitteln nicht möglich, wir glauben jedoch, die Mehrzahl der Handelspräparate stichprobenweise erfaßt zu haben. Das Untersuchungsmaterial wurde ohne Angabe des Zweckes aus einer Apotheke bezogen. Falls von einer Tablettenart für eine Prüfung mehrere Packungen benötigt wurden, wurde darauf geachtet, daß alle Packungen die gleiche Kontrollnummer trugen, also der gleichen Herstellungscharge entstammten. Von einigen Tablettensorten wurden zwei verschiedene Muster untersucht. So weit die Tabletten nicht sofort verarbeitet werden konnten, wurden sie einige Zeit im Eisschrank trocken aufbewahrt.

II. Methodisches.

1. Aufarbeitung des Untersuchungsmaterials.

Wir haben unsere Bestrebungen von vornherein darauf gerichtet, das Follikelhormon zu trennen von den nach Menge und Art sehr stark wechselnden Substanzen, von welchen es in der Handelstablette begleitet wird und welche durch Adsorption oder Umhüllung den Resorptionsverlauf und damit die Wirksamkeit beeinflussen können, wenn man diese Tablettenmassen unverändert appliziert. Das Hormon der Tablette sollte in bezug auf das Lösungsmittel unter genau denselben Bedingungen zur Anwendung kommen, wie das Standardpräparat. Wir haben daher vor Beginn der Prüfungen und während derselben viele methodische Untersuchungen über Aufschlußverfahren an Tabletten anstellen müssen, von denen hier nur diejenigen mitgeteilt werden, die bei den endgültigen Auswertungen angewendet

wurden. Wir haben uns auf die Abtrennung wasser- und lipoidunlöslicher Bestandteile der Tabletten beschränken müssen, da eine Beseitigung solcher Stoffe, welche sich in ihrer Löslichkeit dem Hormon sehr ähnlich verhalten, wegen der dabei unvermeidlichen Verluste nicht in Betracht kam und in manchen Fällen wohl auch zu einem reineren Material geführt hätte, als es bei der Herstellung der Tabletten verwendet worden war.

Die günstigen Ergebnisse an der Ratte bei Injektion von Suspensionen feingepulverter Tabletten, welche Heubner[2] erzielen konnte, scheinen unsere Bedenken zu widerlegen. Es handelt sich jedoch nach unseren Feststellungen bei den Extraktionen bei den von Heubner untersuchten Präparaten um Material, welches relativ wenig adsorbierendes Pulver („Folliculin-Menformon" und „Perlatan") oder wenigstens nur Pulver („Fontanon"), aber vor allen Dingen gar keine Organsubstanz enthält bei hohem Hormongehalt pro Tablette. An der Maus haben wir außerdem in wenigen orientierenden Versuchen mit suspendiertem Tablettenpulver und bei den zahlreichen Prüfungen von wässerigen Suspensionen solcher extrahierter Tablettenrückstände, welche viel Organsubstanz enthalten, die Beobachtung machen müssen, daß immer ziemlich viele Tiere wenige Tage nach der Injektion starben oder daß sich subcutane Cysten bilden, welche ebenfalls bald, meist durch Infektion, zum Tode führen. Wir haben daher auch keine Versuche darüber angestellt, wie weit der Wirkungswert einer genau bekannten Hormondosis, die mit Bindungsmitteln und Organsubstanz in eine Tablettenmasse hineingearbeitet wurde, bei Injektion in Form einer Suspension verändert wird.

Bei der Ausarbeitung der Extraktionsmethode, welche das in den Tabletten enthaltene Hormon in die Form einer öligen Lösung bringen sollte, stützten wir uns auf Erfahrungen über Verluste durch Adsorption bei der Bestimmung kleiner Alkaloidmengen in Organen[3]. Sie veranlaßten uns, das Verfahren so einzurichten, daß es bei möglichster Einfachheit keinerlei Filtrationen, Extraktionshülsen, Fällungen u. dgl. erforderte oder den Extrakt mit anderen stark adsorbierenden Flächen in Berührung brachte. Außerdem sollte das Lösungsmittel möglichst einfach in wasserfreier Form erhältlich und regenerierbar sein, da orientierende Versuche zeigten, daß geringe Feuchtigkeit schnell zu einer groben Zusammenballung der gepulverten Tabletten führt.

Bei diesen Vorversuchen mußten wir von der Deklaration der Handelspräparate unabhängig sein, um einen exakten Einblick in die Wirksamkeit der probierten Aufschlußverfahren zu erhalten. Wir haben deshalb zunächst an einer selber hergestellten Tablettenmasse mit einem genau bekannten Gehalt an internationalem Oestronstandard gearbeitet. Die Tablettenmasse wurde folgendermaßen hergestellt:

[3] Koll, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **162**, 320 (1931).

100 ccm (100 γ) einer wässerigen Lösung des internationalen Oestron-Standards (Lösung „Fw II“ [4]) wurden bei gelinder Wärme auf etwa 20 ccm eingedunstet. Dann wurden 2 g Talcum, 2 g Milchzucker und (aufgeschlämmt in wenig 96%igem Alkohol) 0,9 g Gummi arabicum und 0,1 g Traganth zugefügt und langsam zur Sirupkonsistenz eingedunstet. Nach Abkühlung wurde mit 2 g Amylum Tritici vermischt und die Masse vier Tage lang im Vakuum Exsikkator über öfter gewechseltem P_2O_5 völlig eingetrocknet. 100 γ = 1000 intern. Einh. internationaler Oestron-Standard waren also in 7 g einer Tablettenmasse enthalten, die infolge der Umhüllung ihrer adsorbierenden Teilchen mit eingetrockneten Schleimstoffen die Extraktion nicht allzu einfach erscheinen ließ.

Diese Masse wurde in einem glasierten Porzellanmörser zerkleinert, in einer Achatreibschale ganz fein gepulvert und nochmals über P_2O_5 getrocknet.

Bei den Untersuchungen der Handelstabletten, die meistens dragiert und außerdem oft sehr hart waren, haben wir zur Vermeidung von Substanzverlusten die gröbere Zerkleinerung in einem „Gesteinsmörser“ aus Stahl vorgenommen und dann erst in kleinen Einzelportionen im Achatmörser pulverisiert. Wenn nötig, wurden auch diese Pulver noch einmal kurz über P_2O_5 getrocknet.

Nach einigen ungünstiger verlaufenen Versuchen kamen wir mit folgender Methode zu einem sehr befriedigenden Ergebnis:

Verfahren I.

Tablettenpulver im Rundkolben mit eingeschliffenem Rückflußkühler fünfmal mit je 200 ccm reinsten Benzols je 8 Stunden auf dem Wasserbad gekocht. Zur Verhütung von schwerlöslichen, trockenen Hormonkrusten an irgendeiner Stelle des Arbeitsganges werden zu jeder Benzolportion wenigstens 1 ccm Sesamöl zugefügt, eventuell auch etwas größere Ölmengen, wenn das Gesamtvolumen der resultierenden Öllösung (s. unten) größer als 10 ccm werden durfte. Zum Schutz gegen Eindringen von Wasser wird der Schliff des Kühlers mit Sesamöl gefettet und die obere Kühlermündung mit einem schrägabwärts gerichteten Chlorcalciumrohr verbunden. Jede Benzolportion wird nach dem Abkühlen vorsichtig in ein gut verschließbares Sammelgefäß dekantiert. Die vereinigten Benzolextrakte werden durch Destillation aus einem größeren Kolben stark eingeengt, dann quantitativ in einen kleineren Destillierkolben überführt und das Benzol möglichst vollständig abdestilliert. Die Benzolreste werden sehr hartnäckig durch das zurückbleibende Öl festgehalten. Sie werden auf dem siedenden Wasserbad durch ein langsam auf 12—14 mm Hg gesteigertes Vakuum schnell und vollständig entfernt.

[4] Behrens, B., W. Heubner, W. Koll, u. F. Külz: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 142 (1937).

Die benzolfreie ölige Hormonlösung wird quantitativ in einen (nachgeeichten) Meßzylinder gebracht, dort bei Zimmertemperatur mit Sesamöl zu bestimmtem Volumen aufgefüllt („Stammlösung").

Das Volumen der Stammlösung wurde bei allen Extrakten so gewählt, daß in 1 ccm immer 100 iE oder „deklarierte iE" bzw. „deklarierte ME" enthalten sein mußten — vorausgesetzt, daß die Extraktion erschöpfend verlaufen war, was wir stets kontrollierten.

Die Extrakte wurden im Eisschrank aufbewahrt; meist schon wenige Tage nach ihrer Herstellung wurden sie orientierend ausgewertet und möglichst bald, meistens innerhalb 2 Wochen, die definitive Auswertung angeschlossen. Auch bei späterer Wiederholung einer Auswertung zeigte der Extrakt keine Wirksamkeitsabnahme.

Die zur Herstellung der Tablettenmasse benutzte wässerige Lösung des internationalen Oestron-Standards (Lösung „Fw II", vgl. [1]) war im Eisschrank aufbewahrt worden und in einwandfreiem Zustand. Wir haben trotzdem, um allen Einwänden zu begegnen, den ölgelösten Extrakt nicht einfach gegen eine unserer vorrätigen öligen Lösungen des internationalen Standards ausgewertet, sondern dieselbe wässerige Standardlösung "Fw II" zu einer öligen Lösung verarbeitet. Wir beschreiben kurz die Herstellung der „öligen Kontrollösung" aus „Fw II".

100 cmm Fw II (= 100 γ internationaler Standard = 1000 iE) auf etwa 20 ccm in einer Glasschale eingedunstet. Umwandlung in eine alkoholische Lösung durch wiederholtes Zufügen von abs. Alkohol und Eindunsten auf 20 ccm. In der alkoholischen Lösung wird durch wiederholtes Vermischen mit reinstem Benzol und Einengen (nie zur Trockne) allmählich der Alkohol völlig durch Benzol ersetzt. Es werden dann der benzolischen Lösung 5 ccm Sesamöl zugefügt, eingeengt, Benzolreste im Vakuum entfernt und mit Sesamöl zu 10,0 ccm aufgefüllt. 1 ccm = 100 iE. Bei der Herstellung dieser Lösung war die Bildung schwerlöslicher trockener Krusten sorgfältig verhütet worden.

Die biologische Auswertung ergab folgende mittlere Wirkungsdosen:

Extrakt aus selbsthergestellter Tablettenmasse	0,091 γ
„Ölige Kontrollösung"	0,089 γ

(Versuche Nr. 8 und 9 der Tabelle 1, S. 514.)

Die Übereinstimmung der Wirksamkeit von Extrakt und Kontrollösung zeigt bereits, daß die Extraktion praktisch vollständig gelungen ist.

Nochmalige Behandlung des Tablettenrückstandes mit Benzol (zweimal) ergab einen Extrakt, welcher mit Sicherheit ganz erheblich weniger als 5 % der ursprünglichen Hormonmenge enthielt; auf die genaue Bestimmung dieses kleinen Hormonrestes glaubten wir verzichten zu dürfen. Die kontrollierende Injektion einer wässerigen Suspension des Rückstandes (Verteilung über 3 Tage mit 2 Injektionen täglich) zeigte

erst bei sehr hohen Dosen (d. h. bei einer Substanzmenge, welche ursprünglich 80 iE enthielt) eine oestruserzeugende Wirkung, so daß die praktisch erschöpfende Wirkung der Extraktion nicht mehr zweifelhaft sein kann.

Ebenso wie bei den ersten Extraktionsversuchen an der selbsthergestellten Tablettenmasse wurde auch bei allen Prüfungen der Handelstabletten die Vollständigkeit der Extraktion kontrolliert, indem wir den extrahierten Tablettenrückstand als wässerige Suspension in abgestufter Dosierung einer Anzahl von Mäusen injizierten (Injektionen über 3 Tage zweimal täglich). Die Extraktion wurde in schwierigeren Fällen als gerade ausreichend erachtet, wenn die Wirksamkeit des Rückstandes mit Bestimmtheit unter 10% derjenigen des Extraktes lag. In der überwiegenden Mehrzahl lagen die Werte der Rückstände weit unter der genannten Grenze. Wir verweisen auf die Ergebnisse der Rückstandsprüfungen ganz besonders für die Fälle, in denen die Auswertung der Tabletten eine stärkere negative Abweichung gegenüber der Deklaration ergab (vgl. Stab 11 der Tabelle 2, S. 517).

Das oben beschriebene „Verfahren I" führte bei einer Reihe von Tablettensorten zu einem sehr befriedigenden Ergebnis, jedoch nicht in allen Fällen. Schwierigkeiten traten besonders dann auf, wenn die Tabletten schwer entfernbare Feuchtigkeit neben reichlich Zucker und Bindemitteln oder viel getrocknete Organsubstanz (getrocknete Ovarien oder Gesamtextrakte der Drüsen) enthielten (Verkleben zu groben Partikeln beim Kochen in wasserfreiem Benzol oder unvollständige Extraktion ohne äußerlich erkennbare Störungen.)

In solchen Fällen waren Abwandlungen des Extraktionsverfahrens erforderlich, die wir kurz beschreiben werden. In den tabellarischen Übersichten der Auswertungsergebnisse ist jeweils angegeben, welches Extraktionsverfahren angewendet wurde. Wir haben bei einigen Tabletten eine recht erhebliche Anzahl von Extraktionsversuchen und orientierenden Auswertungen, die hier nicht näher berichtet werden sollen, ausführen müssen, bevor wir zu einem befriedigenden, d. h. eventuell auch einwandfrei ungünstigen, Ergebnis kamen. Wenn auch die Frage der analytischen Kontrollierbarkeit des Follikelhormongehalts derartiger Tablettenpräparate nicht als ausschlaggebend für die Wahl ihrer Bestandteile betrachtet werden soll, so sind uns angesichts der manchmal ganz außerordentlichen Hartnäckigkeit, mit welcher nennenswerte Hormonmengen an der Tablettenmasse hafteten, doch Bedenken aufgetaucht, ob hier nicht durch zu viel Kunst der Zubereitung die vollständige Resorption des Hormons im menschlichen Magen-Darmtrakt unnötigerweise in Frage gestellt wird.

Außer dem „Verfahren I" wurden für die hier mitgeteilten Untersuchungsergebnisse noch folgende Extraktionsmethoden angewendet:

Verfahren II.

Entfernung wasserlöslicher Substanzen zur Gewinnung eines in Benzol nicht verklebenden Pulvers.

Tabletten in Aqu. dest. bei Zimmertemperatur oder bei gelinder Wärme zerfallen lassen, unlöslicher Rückstand und wässerige Lösung durch Zentrifugieren getrennt.

Wasserunlöslicher Teil: Im Vakuum über P_2O_5 getrocknet, gepulvert, weitere Aufarbeitung nach „Verfahren I".

Wasserlöslicher Teil: Im Perforator 8 Stunden mit Chloroform extrahiert. Zusatz von 2 ccm Sesamöl zum Chloroform im Siedegefäß. Vereinigung der öligen Extraktlösungen aus beiden Fraktionen.

Die erschöpfende Chloroformextraktion wurde in dem von W. Koll[5] beschriebenen Perforator ausgeführt; ihre Brauchbarkeit war zuvor an dem wässerigen Standard Fw II mit Kontrolle im Tierversuch festgestellt worden.

Verfahren III.

Nur die äußere wasserlösliche Schicht dragierter Tabletten wurde in Wasser abgelöst und mit Chloroform extrahiert. Behandlung des Kernes nach „Verfahren I".

Verfahren IV.

(Angewendet bei viel Organsubstanz.)

Tabletten in 50 ccm 1 norm. Salzsäure zerfallen lassen, mit 200 ccm Benzol überschichtet, 8 Stunden am Rückflußkühler auf dem Wasserbad erhitzt, nach dem Erkalten die Benzolschicht mit Pipette abgehoben und ins Sammelgefäß gebracht. Nach diesem Verfahren insgesamt fünfmal mit Benzol je 8 Stunden extrahiert. Aufarbeitung des Benzolextraktes wie bei „Verfahren I". Extrahierter Rückstand mit Natronlauge neutralisiert, im Vakuum von Benzol befreit und als Suspension an der Maus geprüft.

Verfahren V.

(Abtrennung des Hormons als wasserlösliches Alkalisalz, angewendet bei störenden Bindemitteln.)

Tabletten in etwa 10 ccm Aqu. dest. zerfallen lassen, dann 10 ccm 4 norm. Natronlauge zugefügt und nach 30 Minuten abzentrifugiert. Zum festen Rückstand nochmals 5 ccm 4 norm. Natronlauge und 20 ccm Wasser, nach 30 Minuten abzentrifugiert. Feste Rückstände auf der Zentrifuge mit Aqu. dest. einmal nachgewaschen.

Vereinigte wässerige Lösungen: Mit 4 norm. Salzsäure neutralisiert und im Perforator mit Benzol 3 Tage extrahiert (5 ccm Sesamöl zum Benzol im Siedegefäß). Überführung in ölige Lösung und Auswertung.

---

[5] Koll, W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **162**, 339 (1931).

Ungelöster Teil: Mit 4 norm. Salzsäure neutralisiert, unter Zusatz von Alkohol auf dem Wasserbad getrocknet. Völlige Trocknung im Vakuumexsikkator über P_2O_5 und KOH. Herstellung eines Kontrollextraktes nach „Verfahren I". Anschließend Prüfung des festen Rückstandes als wässerige Suspension an der Maus.

Andere, zum Teil umständlichere Verfahren führten in schwierigen Fällen auch nicht zum Ziel. Sie werden deshalb nicht mitgeteilt.

Ebenso wie die extrahierten festen Anteile der Tablettenmasse wurden auch die bei den letzten Verfahren anfallenden wässerigen Fraktionen nach der Extraktion eingeengt und auf Hormonreste geprüft. Der Befund war stets negativ.

Regeneration des Benzols: Ausschütteln mit 2 norm. Natronlauge. Waschen mit Wasser, mehrtägiges Trocknen über gekörntem Chlorcalcium. Filtration und Destillation unter Verwerfung eines kleinen Vorlaufes.

2. Anordnung der Auswertungsversuche.

Die Versuche wurden an kastrierten weiblichen Mäusen ausgeführt. Alle wesentlichen Einzelheiten der Versuchsanordnung stimmen mit den Angaben in der früheren Arbeit [1] überein. Einige Punkte, an denen sich aber ebenfalls nichts Wesentliches geändert hat, sollen hier kurz noch einmal berührt werden. Die Injektion der öligen Lösungen erfolgte subcutan an drei aufeinanderfolgenden Tagen einmal täglich (morgens). Die Gesamtdosis für ein Tier war anfänglich noch wie früher immer in 0,15 ccm enthalten, so daß mit jeder Injektion 0,05 ccm verabfolgt wurden. Herstellung der Injektionslösungen für jede Tiergruppe erfolgte durch Verdünnung der Stammlösung mit Sesamöl. In allen Versuchen nach dem 5. April 1937 ist das injizierte Ölvolumen noch weiter vermindert worden: Gesamtdosis pro Tier in 0,05 ccm, Einzeldosis in 0,0166 ccm. Injektion mit einer nachgeeichten Tuberkulinspritze nach Barthélémy [1].

Der Dosenabstand betrug im mittleren Teil des Kollektivs, dem Bereich der stärksten Steigung der Dosis-Wirkungskurve, 10%, in den Randgebieten mit schwacher Steigung der Kurve 15—20%. Die annähernde Lage der mittleren Wirkungsdosis wurde immer zunächst in Vorversuchen an einem dafür besonders reservierten kleineren Tiermaterial ermittelt, so daß in den eigentlichen Auswertungsversuchen Fehlschläge und Zeitverluste durch falsche Bemessung der Dosengrößen kaum einmal vorkamen.

Zwischen je 2 Versuchen lag immer eine Pause von 1 Woche. Die Reihenfolge, in welcher die einzelnen Tiergruppen steigende oder fallende Hormondosen erhielten, wurde in jedem Versuch umgekehrt, so daß die Tiere der äußeren Gruppen des Reihenversuchs abwechselnd niedrige und hohe Dosen erhielten, während die Dosenschwankungen bei den mittleren Gruppen geringer waren.

Die Tierzahl für jede geprüfte Dosis betrug 10 und mehr, nur in wenigen Versuchen an älteren zusammengeschmolzenen Tierserien mußten wir uns

auf nur 8—6 Tiere pro dosi beschränken (s. Tabelle 1). Wir halten bei Follikelhormonauswertungen an der Maus den engen Dosenabstand bei relativ hohen Tierzahlen in jeder Gruppe für erforderlich in Anbetracht der früher ermittelten Empfindlichkeitsstreuung[1] der Maus.

Es sei nochmals nachdrücklich darauf hingewiesen, daß wir als positive Reaktion nur den Volloestrus bewerteten. Die mittlere Wirkungsdosis wurde nach dem Verfahren von Behrens und Kärber[6, 1] als arithmetisches Mittel berechnet. Die Streuung der Auswertungsergebnisse bei unserer Versuchsanordnung ist bereits bekannt.

Als Standardpräparat standen uns noch ausreichende Mengen öliger Lösung des internationalen Oestron-Standards („Fo I" und „Fo II"[4]) zur Verfügung. Die Versuche Nr. 10 und 11 in Tabelle 1 zeigen, daß beide Lösungen noch den gleichen Wirkungswert haben. Aus den Versuchen Nr. 30, 31, 32 in Tabelle 1 ergibt sich ferner, daß die uns früher von der Schering-Kahlbaum A.-G. zur Verfügung gestellte ölige Lösung von kristallisiertem Progynon noch dieselbe Wirksamkeit besitzt. Wir benutzten diese Lösung nicht mehr, teilen das Ergebnis jedoch mit, da Heubner[2] diesen „öligen Hausstandard" noch bei den Auswertungen an Ratten benutzt hat.

Die gleichzeitige Durchführung des Wirkungsvergleichs der Tablettenextrakte mit dem internationalen Standard an zwei gleich großen Kollektiven gleichartigen Mäusematerials und Wiederholung desselben Versuchs unter Auswechslung der Tierverteilung auf Tablettenextrakt und Standard war wegen der in jedem Reihenversuch benutzten hohen Tierzahl mit den zur Verfügung stehenden Hilfskräften nicht durchführbar. Wir haben deshalb wieder wie bereits früher an der gleichen Tierserie nacheinander auszuwertendes Extrakt und Standard injiziert, derart, daß erst 1 oder 2 Versuche mit dem Standard, dann 1 (ausnahmsweise 2) Versuch mit Tablettenextrakt und dann wieder ein Versuch mit Standard aufeinander folgten. Für die Berechnung der Wirksamkeit des geprüften Tablettenextraktes wurden die Mittelwerte aus den mittleren Wirkungsdosen der „eingabelnden" Versuche mit internationalem Standard zugrunde gelegt.

Die Versuche wurden im Oktober 1936 begonnen und im Dezember 1938 abgeschlossen. Die Beurteilung des Abstrichmaterials und die Herstellung der Injektionslösungen lag immer in derselben Hand (Koll).

III. Versuchsergebnisse.

Die Berechnung der Wirksamkeit eines Tablettenextraktes gegenüber dem Mittelwert der mittleren Wirkungsdosen des Standardpräparates erfordert die Mitteilung der einzelnen Versuchsergebnisse. Sie wurden in Tabelle 1 zusammengestellt und zugleich die charakterisierenden Angaben

[6] Behrens, B., u. G. Kärber: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **177**, 379 (1935).

Tabelle 1. Zusammenstellung aller Versuche, auf welche im Text und in den Prüfungsergebnissen (Tabelle 2) Bezug genommen wird.

Versuch Nr.	Datum	Mäuseserie	Injiziertes Präparat	Protokollzeichen des Extraktes	Mittlere Wirkungsdosis	Tierzahl		Extraktionsverfahren
						pro Dosis	Gesamtzahl	
1	23. XI. 1936	A	Int. Stand. Fo II	—	0,96 iE	6	67	—
2	7. XII. 1936	A	Perlatan	I	1,02 dekl. iE	6	65	I
3	19. XII. 1936	A	Int. Stand. Fo II	—	0,99 iE	5—6	58	—
4	23. XI. 1396	B	Int. Stand. Fo II	—	1,09 iE	8	86	—
5	7. XII. 1936	B	Perlatan	I	1,13 dekl. iE	8	76	I
6	19. XII. 1936	B	Int. Stand. Fo II	—	1,07 iE	7	77	
7	5. I. 1937	X	Int. Stand. Fo II	—	1,09 iE	12—13	138	—
8	18. I. 1937	X	Int. Stand. Fw II in Öl überführt	—	0,89 iE	12	132	s. Text
9	1. II. 1937	X	Eigene Tabl.-Masse m. Zusatz v. Fw II	—	0,91 iE	10—11	115	I
10	15. II. 1937	X	Int. Stand. Fo II	—	0,89 iE	8—10	99	
11	15. III. 1937	X	Int. Stand. Fo I	—	0,91 iE	6—7	71	—
12	22. II. 1937	D	Int. Stand. Fo I	—	1,00 iE	11—13	133	—
13	8. III. 1937	D	Int. Stand. Fo I	—	0,96 iE	11—13	131	—
14	22. III. 1937	D	Fontanon (Muster 1)	Ia	0,70 dekl. ME	12	131	I
15	5. IV. 1937	D	Ovario Neu-Glandosan	I	1,43 dekl. ME	11—12	129	I
16	19. IV. 1937	D	Int. Stand Fo I	—	0,95 iE	10—12	118	—
17	4. V. 1937	D	Follikulin-Menformon (Muster 1)	Ia	1,16 dekl. iE	10—12	121	I
18	18. V. 1937	D	Int. Stand. Fo I	—	0,87 iE	10—12	121	—
19	1. VI. 1937	D	Oestroglandol	II	1,21 dekl. iE	10—11	115	II
20	16. VIII. 1937	E	Int. Stand. Fo. I	—	1,06 iE	10—11	118	—
21	30. VIII. 1937	E	Ovanorm	I	0,66 dekl. ME 0,13 dekl. iE	9—10	100	II
22	14. IX. 1937	E	Int. Stand. Fo I	—	0,90 iE	7—9	87	—
23	23. VIII. 1937	F	Int. Stand. Fo I	—	0,95 iE	12—14—(24)*	187	—
24	7. IX. 1937	F	Novarial (Muster 1)	Ia	0,87 dekl. ME	12—13—(25)	174	I
25	21. IX. 1937	F	Int. Stand. Fo I	—	1,02 iE	12—13—(25)	176	—

Tabelle 1 (Fortsetzung).

Versuch Nr.	Datum	Mäuse-serie	Injiziertes Präparat	Proto-koll-zeichen des Ex-traktes	Mittlere Wirkungsdosis	Tierzahl		Extrak-tions-ver-fahren
						pro Dosis	Gesamt-zahl	
26	5. X. 1937	F	Panhormon	II	0,77 dekl. ME	12—13	171	III
27	18. X. 1937	F	Int. Stand. Fo I	—	1,22 iE	10—12—(21)	149	—
28	1. XI. 1937	F	Hogival	III	1,32 dekl. iE	9—11	138	III
29	15. XI. 1937	F	Int. Stand. Fo I	—	0,90 iE	9—10—(18)	131	—
30	14. IX. 1937	H	Int. Stand. Fo I	—	1,06 iE	15—16—(32)	180	—
31	27. IX. 1937	H	Int. Stand. Fo I	—	1,04 iE	15—16—(32)	180	—
32	11. X. 1937	H	Progynon-Hausstandard	—	0,106 γ	14—16—(32)	177	—
33	26. X. 1937	H	Folliculin-Menformon (Muster 2)	Ib	1,42 dekl. ME	14—15	172	I
34	8. XI. 1937	H	Int. Stand. Fo I	—	1,29 iE	13—15	169	—
35	22. XI. 1937	H	Unden	V	1,17 dekl. iE	13—15	166	V
36	6. XII. 1937	H	Int. Stand. Fo I	—	1,10 iE	13—14—(28)	160	—
37	18. XII. 1937	H	Fontanon (Muster 2)	Ib	1,14 dekl. ME	13—14	157	V
38	10. I. 1938	H	Int. Stand. Fo I	—	1,05 iE	11—12—(24)	139	—
39	24. I. 1938	H	Rejuven-Oototal	IV	1,78 dekl. ME	11—12	136	IV
40	6. II. 1938	H	Novarial (Muster 2)	Ib	0,33 dekl. ME	11—12	134	I
41	21. II. 1938	H	Int. Stand. Fo I	—	1,13 iE	10—11	107	—
42	7. III. 1938	H	Progynon (Muster 1)	III	$\sim$ 3,00 dekl. iE	11	128	V
43	21. III. 1938	H	Int. Stand. Fo I	—	1,03 iE	10—12	125	—
44	18. VII. 1938	H	Int. Stand. Fo I	—	1,12 iE	6—7	60	—
45	1. VIII. 1938	H	Progynon (Muster 2)	IV	1,60 dekl. iE	5—6	56	I
46	22. VIII. 1938	H	Oestranin	VII	$\gg$ 8,00 dekl. iE	5	50	I
47	5. IX. 1938	H	Int. Stand. Fo I	—	1,08 iE	5	41	

* Die in ( ) gesetzten Tierzahlen pro Dosis wurden in den mittleren 3- 4 Gruppen im Gebiet der mittleren Wirkungsdosis eingesetzt.

Tabelle 2. Geprüfte Präpara

Name des Präparates, herstellende Firma	Tablettenzahl der Packung	Deklaration, 1 Tablette =	Fabrik-Nr.	Protokollzeichen des Extraktes	Tablettenzahl pro
Perlatan (C. F. Boehringer & Söhne, Mannheim-Waldhof)	15	0,1 mg krist. Follikelhorm. = 1000 iE	971	I	2
Fontanon, Muster 1	20	500 ME	24	Ia	0
Muster 2 (Sächs. Serum-Werke A.-G., Dresden)	20	500 iE	40	Ib	0
Ovario Neu-Glandosan (Dr. Fresenius, Frankfurt a. M.)	100	0,125 g Trockensubstanz 50 ME	54	I	60
Folliculin-Menformon, Muster 1	10	3000 iE	736 2	Ia	1
Muster 2 (Degevop A.-G., Berlin-Spandau)	15	1000 iE	337 1	Ib	3
Oestroglandol „Roche" (F. Hoffmann-La Roche A.-G., Berlin)	20	500 iE	431 G307146	II	-
Ovanorm (Organtherap. Werke Osnabrück)	20	250 ME (1250 iE)	7336	I	12
Novarial „stark", Muster 1	50	100 ME	3946 351750	Ia	30
Muster 2 (E. Merck, Darmstadt)	50	100 ME	31097 361/20	Ib	30
Ovarium-Panhormon (Dr. Henning, Berlin-Tempelhof)	10	300 ME	13	II	10
Hogival (Chem.-Pharm. A. G. Bad Homburg-Frankfurt a. M.)	10	300 ME	111	III	10
Unden (I. G. Farbenindustrie A.-G., Leverkusen)	15	0,01 mg Oestron = 100 iE	812635	V	15
Rejuven-Oottotal (Labopharma, Berl.-Charlottenburg	100	0,75 g frische Ovar.-Subst. 100 ME	F 7	IV	30
Progynon, Muster 1	15	1000 iE	FDAA136	III	3
Muster 2 (Schering-Kahlbaum A.-G. Berlin)	15	10000 iE	HDAA 010	IV	1
Oestranin-Feminin (Natterer G. m. b. H., München)	10	100 ME	3078	VII	40

über Tierzahl pro dosi sowie Gesamtzahl der Tiere hinzugefügt. Der Dosenabstand wurde auf S. 512 erörtert. Die Tabelle zeigt zugleich, wie mäßig die Schwankungen der mittleren Wirkungsdosen des internationalen Standards im allgemeinen sind.

Nach den mittleren Wirkungsdosen der Tabelle 1 haben wir die Wirksamkeit der Tablettenextrakte in der Form ausgedrückt, daß wir die einer deklarierten „Einheit" (iE oder ME) der Tabletten entsprechende Zahl internationaler Einheiten des Standards berechneten. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Die Tabelle enthält außerdem alle Angaben, die zur genauen Kennzeichnung des untersuchten Präparates erforderlich sind, außerdem Angaben über das angewendete Extraktionsverfahren und unser Protokollzeichen des Extraktes.

und Prüfungsergebnisse.

Zeitpunkt der Prüfung	Prüfungsergebnis 1 dekl. Einheit = iE	Ergebnis berechnet aus Versuch Nr.	Abweich. der Ergebnisse von Deklaration %	Hormonrest in extrah. Rückstand %	Extraktionsmethode
7. XII. 1936	0,96	2 geg. 1 u. 3	− 4	—	I
7. XII. 1936	0,96	5 geg. 4 u. 6	− 4	—	I
22. III. 1937	1,39	14 geg. 12, 13, 16	+ 39	< 10 *	I
18. XII. 1937	0,95	37 geg. 36 u. 38	− 5	< 5	V
5. IV. 1937	0,68	15 geg. 12, 13, 16	− 32	< 2	I
4. V. 1937	0,79	17 geg. 16, 18	− 21	≪ 1	I
26. X. 1937	0,80	33 geg. 30, 31, 34	− 20	≪ 5	I
1. VI. 1937	0,75	19 geg. 16, 18	− 25	< 2	II
30. VIII. 1937	1 dekl. iE = 0,30	21 geg. 20, 22	− 70	∼ 3	II
7. IX. 1937	1,14	24 geg. 23, 25	+ 14	∼ 10	I
6. II. 1938	3,30	40 geg. 38, 41	+ 230!	∼ 10	I
5. X. 1937	1,45	26 geg. 25, 27	+ 45	∼ 2	III
1. XI. 1937	0,80	28 geg. 27, 29	− 20	< 2	III
22. XI. 1937	1,02	35 geg. 34, 36	+ 2	≪ 10	V
24. I. 1938	0,61	39 geg. 38, 41	− 39	≪ 2	IV
7. III. 1938	∼ 0,35	42 geg. 41, 43	∼ − 65	≪ 10	V
1. VIII. 1938	0,69	45 geg. 44, 47	− 31	< 1	I
22. VIII. 1938	≪ 0,12	46 geg. 44, 47	∼ − 90	≪ 5	I

Einige Erörterungen sind darüber notwendig, unter welchen Gesichtspunkten wir den Vergleich von Deklaration und Untersuchungsergebnis durchgeführt haben (vgl. Stab 10 der Tabelle 2).

Ein unmittelbarer Vergleich ist möglich, wenn der Hormongehalt der Präparate in iE deklariert ist. In denjenigen Fällen aber, in denen — immer noch — nach „Mäuse-Einheiten" deklariert wird, haben wir gefordert, daß 1 ME annähernd 1 iE entsprechen soll, wenn nicht ausdrücklich die Größe der jeweiligen ME in iE definiert wird, wie beim „Ovanorm" und bei den ersten der von uns untersuchten „Progynon"-Packungen. (Im letzteren Fall ist dann jedoch die Deklaration in „ME" ganz überflüssig.) Wir halten diese Anforderung für gerechtfertigt, einmal schon deshalb, weil bei dem heutigen Stande der Follikelhormondarstellung 1 iE keine sehr große

Wirkungsdosis mehr darstellt, vor allen Dingen aber deshalb, weil sonst überhaupt kein Maßstab an Präparate gelegt werden kann, deren Hormongehalt nach Mäuse- oder sonstigen Tiereinheiten angegeben ist. Bei genau festgelegter Auswertungstechnik wäre mit derartigen Einheiten noch eine grobe Kennzeichnung der Größenordnung einer Hormondosis möglich. Aber selbst unter solchen Bedingungen, die in der Praxis keineswegs verwirklicht sind, weist die Größe der Mäuse- (und ebenso der Ratten-) Einheit erhebliche Schwankungen auf, wie in der Literatur hinreichend oft betont worden ist. Wenn aber der Angabe „ME" keinerlei Mitteilung über die Methode der Auswertung hinzugefügt wird, wird sie als „Deklaration" völlig inhaltlos, da nach unseren und anderen Beobachtungen die „1 ME" entsprechende Hormondosis je nach Testreaktion und Versuchstechnik wohl mindestens im Verhältnis 1 : 30 variieren kann. Ein Hinweis auf die Tatsache, daß selbst das Auswertungsergebnis gegenüber einem Standardpräparat durch methodische Unterschiede noch nennenswert schwanken kann [1], läßt unsere Ablehnung der leider immer noch fortgesetzten Deklaration nach „ME" um so begründeter erscheinen.

IV. Diskussion der Ergebnisse.

Die in der Tabelle 2, Stab 10 niedergelegten prozentualen Differenzen zwischen Prüfungsergebnissen und Deklarationen weisen in etwas mehr als der Hälfte der Fälle keine allzu großen Ausmaße auf, wenn man Abweichungen bis zu $\pm$ 30% zuläßt. Dieser Spielraum ist relativ weit gefaßt, jedoch bei den uneinheitlichen Auswertungsmethoden wohl geboten.

Ein Vergleich unserer Werte für „Folliculin-Menformon", „Perlatan" und „Fontanon" mit denen des Berliner Instituts findet sich in der anschließenden Arbeit von Heubner [2].

Das nach der Deklaration zu erwartende Resultat wurde nur bei einer Probe von „Novarial" ganz erheblich überschritten (+ 230%). Einige andere Präparate weisen dagegen einen bemerkenswert geringeren Wirkungswert auf. Schon ein Defizit der Wirksamkeit von 40% („Rejuven-Oototal") dürfte reichlich groß sein. Noch stärker waren die negativen Abweichungen beim „Ovanorm" (— 70%) und bei einem der beiden untersuchten „Progynon"-Muster (— $\sim$ 65%). Beim „Oestranin" fanden wir sogar nur 10% der zu fordernden Wirksamkeit.

Gerade auf die Präparate, an welchen wir stärkere negative Abweichungen konstatierten, haben wir besonders viel Arbeit verwendet und meistens eine größere Zahl von Extraktionen nach verschiedenen Methoden vorgenommen, immer unter Kontrolle der extrahierten Tablettenmasse. Es ist daher wohl nicht möglich, Mängel der Extraktionsverfahren für die ungünstigen Ergebnisse verantwortlich zu machen. Wir haben außerdem keine Anzeichen für einen etwaigen Hormonverlust durch Zerstörung beobachten können, ebenso haben wir, sobald die Extraktion unvollständig verlaufen war, das Hormon auch im Tablettenrückstand nachweisen können. Wir haben dieser Frage gerade beim „Oestranin", welches einen

hohen Gehalt an Organsubstanz hat, noch einmal besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Es wurde eine genau bekannte Oestronmenge der extrahierten Tablettenmasse zugefügt und dann wieder extrahiert. Diese Versuche bestätigten nur die Tatsache, daß das Hormon aus einer an Organsubstanz reichen Tablettenmasse besonders schwer extrahierbar ist, daß sich aber die im Rückstand verbliebenen Hormonreste bei der Prüfung an der Maus dem Nachweis nicht entziehen.

Auf Grund der ausgeführten Kontrollversuche halten wir uns für berechtigt, aus dem in mehreren Fällen gefundenen stärkeren Wirkungsdefizit einen Mangel an wirksamer Substanz zu konstatieren. Wo im einzelnen Fall der Fehler liegt, ob in der Herstellung und Aufbewahrung der Präparate oder in der von den Firmen angewendeten Auswertungsmethodik des verarbeiteten hormonhaltigen Materials, vermag die Untersuchung der fertigen Handelsprodukte nicht aufzuklären. Nach unseren Ergebnissen für „Ovanorm" und „Progynon" (Nr. FDAA 136) erscheint uns jedoch eine Bemerkung noch geboten.

Nach der Deklaration soll eine Tablette „Ovanorm" 250 ME = 1250 iE enthalten. Wir fanden aber nur 30% der nach der Deklaration zu fordernden Wirksamkeit.

Ähnliche Verhältnisse liegen beim Progynon vor, dessen Hormongehalt jetzt nur noch in iE angegeben ist. Die ersten Proben jedoch, an denen wir im Sommer und Herbst 1936 Vorversuche anstellten (z. B. Präparat Nr. EHAA 113) waren deklariert:

1 Dragee = 200 ME = 1000 iE.

Die orientierenden Versuche an diesem Präparat deuteten auf einen Oestrongehalt ähnlicher Größenordnung, wie wir ihn später an der Charge FDAA 136 fanden.

Auf Grund welcher Versuchsanordnung die in den Deklarationen für Ovanorm und früher auch für Progynon aufgestellte Wirkungsbeziehung 1 ME = 5 iE zustande kommt, entzieht sich unserer Kenntnis. In unserem, inzwischen recht umfangreich gewordenen, Versuchsmaterial haben wir durch 1 iE mit unserer Versuchstechnik immer einen Effekt erzielen können, wie er einer gebräuchlichen biologischen Definition von „1 ME" entspricht, d. h. Volloestrus an 50% der Mäuse. Wir verweisen auf die mittleren Wirkungsdosen für den internationalen Oestronstandard in Tabelle 1 dieser Arbeit, sowie in den Tabellen 14 und 17 der früheren Arbeit [1], welche nur einen Teil unseres Beobachtungsmaterials darstellen. Wir haben früher auch bereits darauf hingewiesen, daß nach unseren Prüfungsergebnissen an dem vermutlich doch nach derselben „ME" deklarierten wassergelösten Handelspräparat Progynon 1 ME keineswegs 5 iE, sondern nur 1,24 iE entsprach. Deshalb müssen wir für die an Ovanorm- und Progynontabletten gefundene erhebliche Differenz zwischen Deklaration und Auswertungsergebnis wesentliche Unterschiede der von den Firmen und von uns angewendeten Versuchsanordnung zum mindesten mitverantwortlich machen neben den anderen genannten Möglichkeiten.

Ob die starke Wirkungsdifferenz der beiden Progynonmuster (s. Tabelle 2) untereinander ebenfalls methodisch bedingt ist, können wir nicht entscheiden.

Wir verkennen keineswegs, daß auch bei einheitlicherer Technik in manchen Fällen die Bestimmung des wirklichen Gehalts an Oestron durch resorptionsbeeinflussende Begleitstoffe noch gewisse Schwierigkeiten bieten würde, für deren Überwindung die bisherigen methodischen Ergebnisse, so auch die jetzt von Heubner[2] mitgeteilten, nur als Grundlage dienen können. Ebenso ergeben sich für die viel bescheidenere Forderung einer willkürlichen, aber konstanten Wirkungsrelation eines Präparates zu einem Standard im Falle von chemischen Struktur- oder Bindungsunterschieden gegenüber dem Standard[7] noch eine Reihe von Standardisierungsfragen. Über den vollen Umfang der hier für die Praxis zu lösenden Aufgaben wird aber kein Urteil möglich sein, solange es schon allein infolge der gänzlich uneinheitlichen Auswertungsmethodik nicht einmal möglich ist, für die oestronhaltigen Präparate, die für die perorale Anwendung heute noch im Vordergrunde stehen, mit leidlicher Sicherheit in verschiedenen Laboratorien übereinstimmende Auswertungsergebnisse gegen den internationalen Oestronstandard zu erzielen. Wir glauben deshalb, nicht zu weit zu gehen, wenn wir die schon früher erhobene Forderung wiederholen, nämlich, die dem internationalen Standard beigegebenen Richtlinien erheblich zu erweitern und zu präzisieren in bezug auf Einzelheiten der anzuwendenden Methodik.

Zusammenfassung.

1. An kastrierten Mäusen wurden zur peroralen Verwendung bestimmte Follikelhormontabletten gegen den internationalen Oestron-Standard ausgewertet. Es wurden 13 verschiedene Handelspräparate, davon 4 an je 2 Proben, untersucht.

2. Für die Auswertung wurden ölgelöste Extrakte aus den Tabletten nach näher beschriebenen Verfahren hergestellt. Die Vollständigkeit der Extraktionen wurde durch Prüfung der extrahierten Rückstände an der Maus kontrolliert.

3. Die Ergebnisse der Auswertungen sind in Tabelle 2 (S. 516) zusammengefaßt.

4. In mehreren Fällen wurden gegenüber der Deklaration nennenswerte Abweichungen der Wirksamkeit nach unten festgestellt, die kaum anders zu deuten sind als durch einen Mangel an wirksamer Substanz. Am auffälligsten war das Defizit bei dem Präparat „Oestranin-Feminin".

5. Es wird die Forderung nach genaueren Richtlinien für die Auswertungsmethodik von Follikelhormon-Präparaten nachdrücklich erhoben.

[7] Bezüglich des Wirkungsverhältnisses Oestron zu Oestradiol vgl. z. B. Koll, W., u. H. Nocken: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 340 (1939).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Über Auswertung von oestronhaltigen Tablettenpräparaten*.

(Nach Versuchen von Jutta Brockmeier, Margarete Stuhlmann und Hertha Schülke.)

Von

W. Heubner.

(Eingegangen am 23. August 1939.)

I.

Im Anschluß an Untersuchungen, die in einer Arbeit von Behrens, Heubner, Koll und Külz[1] niedergelegt wurden, unternahmen wir die Auswertung von einigen Tablettenpräparaten des Handels, die einen Gehalt an dem Follikelhormon Oestron deklarierten. Dabei arbeiteten wir wiederum Hand in Hand mit dem pharmakologischen Institut Frankfurt, dessen Ergebnisse in der vorausgehenden Arbeit von Koll und Külz[2] dargelegt sind. Wie schon daraus hervorgeht, erforderte auch die neue Auswertungsserie ziemlich viel methodische Vorarbeit.

II. Methodisches.

Ein geeignetes Verfahren zur Extraktion von Tabletten zwecks quantitativer Gewinnung des darin enthaltenen Oestrons hat Koll ausgearbeitet und in seiner Mitteilung beschrieben. Auch wir haben anfangs in einer Reihe von Versuchen dieses Extraktionsverfahren (Verfahren I von Koll) mit Benzol benutzt und das erhaltene Extrakt in öliger Lösung injiziert. Die zur Extraktion benutzte Menge betrug dabei so viel, daß nach der Deklaration 1,00 mg Oestron im Gesamtextrakt zu erwarten war; abgewogen wurde von einem Mischpulver, das aus einer größeren Zahl von Dragees oder Tabletten hergestellt war.

Später prüften wir die unmittelbare Applikation der Tablettenmasse ohne die zeitraubende Extraktion und fanden das Verfahren brauchbar. In der Reibschale wurde je eine Tablette oder ein Dragee so fein zerrieben, daß das erhaltene Pulver in Suspension eine mittelstarke Injektionskanüle passierte. Die Suspension erfolgte entweder in Öl oder in physiologischer Kochsalzlösung, gewöhnlich unter Beigabe von etwas Gummi arabicum. Zwecks gleichmäßiger Verteilung des Pulvers in der Suspension wurden Pulver und Suspensionsmittel in runden verschlossenen Glasflaschen maschinell stundenlang langsam rotiert. Von derart hergestellten ganz

* Ausgeführt im Auftrage der Deutschen pharmakologischen Gesellschaft und mit Hilfe einer Zuwendung durch das Reichsministerium des Innern.

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 121 (1937). — [2] Ebenda **193**, 505 (1939).

homogenen Suspensionen erhielten die Prüftiere abgemessene Mengen subcutan injiziert. Natürlich wurde je nach dem Suspensionsmittel ein in Öl oder in Wasser gelöster Standard zum Vergleich gewählt.

Die zeitliche Verteilung der injizierten Dosen erfolgte nicht immer in der gleichen Weise. Erst im Laufe der Auswertungsversuche konnten wir uns die von Koll und Nocken[3], sowie Heubner und Brockmeier[4] mitgeteilten Erfahrungen zunutze machen. Wesentlich ist jedoch, daß selbstverständlich die Dosierungweise bei dem geprüften Präparat und dem Standard stets die gleiche war.

Unsere Prüftiere waren wie früher kastrierte weiße Ratten, die serienweise zu gleicher Zeit auf das geprüfte Präparat und den Standard verteilt wurden; mehrmals wurden die gleichen Serien zu einem späteren Zeitpunkt unter Kreuzung der Verteilung zu einer zweiten Prüfung des gleichen Präparates verwendet. Die Dosierung erfolgte wie früher in geometrischer Progression, die Auswertung nach Behrens und Kärber[5]. Vielfach stellte es sich als erforderlich heraus, die Prüfung auf zwei aufeinanderfolgende Wochen zu verteilen, weil der gesamte Dosenbereich für Präparat und Standard nicht auf einmal bewältigt werden konnte. Im allgemeinen erfolgte eine Auswertung an etwa 80 (zweimal 40) Tieren im Laufe von 11 Tagen. Die Ratten wurden – sofern sie nicht, natürlich mit den gebotenen Abständen, fortlaufend gebraucht wurden — stets vor Beginn neuer Auswertungen durch einmalige Anwendung der mittleren wirksamen Dosis von Oestron (1,5 γ in öliger Lösung) vorbehandelt und der Erfolg kontrolliert.

Die gebrauchten Standardpräparate waren:

1. Eine bereits früher[6] von uns benutzte ölige Lösung mit 50 mg% reinen Progynons, die wir der Firma Schering-Kahlbaum, A.-G., Berlin, verdanken; wir nennen sie „öligen Hausstandard".

2. Wässerige Progynonlösung zu 1 mg%.

3. Eine von Koll im Frankfurter Institut hergestellte wässerige Lösung von internationalem Standard mit 1 γ je ccm [7]: wässeriger Standard Fw II.

4. Eine selbstbereitete wässerige Lösung von internationalem Standard in der gleichen Konzentration: Standard Bw III.

Alle Lösungen wurden dauernd im Kühlschrank aufbewahrt.

III. Vorversuche mit Injektion von Suspensionen.

Zunächst erschien es wichtig zu prüfen, ob die Gegenwart eines adsorbierenden Pulvers in der Lage ist, die Geschwindigkeit der Resorption von Oestron zu beeinträchtigen. Deshalb wurde in zwei Versuchen (an der gleichen Rattenserie unter Kreuzung der beiden Hälften) öliger Progynon-Standard mit und ohne Zusatz von suspendiertem (und mit injiziertem) Pulver von Bolus alba ausgewertet; die Ergebnisse zeigt Tabelle 1.

[3] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 340 (1939). — [4] Ebenda **191**, 355 (1939). — [5] Ebenda **177**, 379 (1935). — [6] Ebenda **186**, 141 (1937). — [7] Vgl. ebenda **186**, 142 (1937).

Tabelle 1.

Die Ratten entstammten der Serie I, kastriert im Sommer 1936. Die Verteilung der Gesamtdosis erfolgte auf drei Injektionen während dreier Tage.

Nr. des Versuchs	Geprüftes Präparat	Rattenzahl insgesamt	Rattenzahl für jede Dosis	Beginn des Versuchs 1938	Dosenabstand in %	Mittlere wirksame Dosis Oestron
1a	Öliger Hausstandard	40	5	27. VI.	10	0,76
1b	Derselbe mit Bolus alba	40	5	27. VI.	10	0,72
2a	Öliger Hausstandard	35	5	25. VII.	20	0,73
2b	Derselbe mit Bolus alba	20	5	25. VII.	20	0,71
					Mittel:	0,73

Das Ergebnis zeigt eindeutig, daß — mindestens in öliger Lösung — der Zusatz eines Adsorbens die Bestimmung der mittleren wirksamen Dosis nicht verfälscht.

In einem weiteren Versuch wurde ganz roh geprüft, ob in wässeriger Suspension wenigstens die Hauptmasse der zugeführten Substanz zur Wirkung käme. Von dem Tablettenpräparat Perlatan, das nach der Deklaration je Tablette 1000 internationale Einheiten (also 100 γ) Oestron enthält, wurden je eine Tablette mit 30 und 15 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrieben und damit 4 Gruppen zu je 3 Ratten an drei aufeinanderfolgenden Tagen gespritzt; Dosen und Ergebnisse zeigt Tabelle 2.

Tabelle 2. Versuch 3.

Dosen γ Perlatan	Von 3 Ratten Oestrus positiv bei	% positiv	Dosen γ Perlatan	Von 3 Ratten Oestrus positiv bei	% positiv
1	0	0	2	3	100
1,5	2	67	10	3	100

Da bei der gewählten Applikationsweise die mittlere wirksame Dosis erfahrungsgemäß um 1,2 γ zu schwanken pflegt, so führt das Ergebnis zur Bejahung der gestellten Frage. Noch deutlicher geht die Vollständigkeit der Ausnutzung einer Suspension aus der Übersicht der auf Tabelle 7 verzeichneten Zahlen hervor (vgl. S. 526). Die als Suspension verwandten Proben waren — bezogen auf das Standardpräparat — eher wirksamer als das Extrakt und sicherlich nicht weniger wirksam.

Die Injektion von Suspensionen wurde ferner zur Prüfung der Vollständigkeit der Extraktion nach dem von Koll angegebenen Verfahren verwendet (Versuch 4): Extrahierter Rückstand von 10 Perlatantabletten (mit ursprünglich 1000 γ Oestron je Tablette) wurde auf 25 ccm Suspension mit Wasser gebracht, davon 3 Ratten dreimal je 0,25, 5 weiteren Ratten je 0,5 ccm injiziert; die injizierten Tablettenmengen hatten vor der Extraktion 30 und 60 γ Oestron enthalten; dennoch trat bei keinem dieser Tiere ein regelrechtes Schollenstadium ein. Die Extraktion hatte also be-

stimmt mehr als 98 % des ursprünglich vorhandenen Oestrons entfernt. Zwei analoge Versuche (5 und 6) mit 2 Proben extrahierter Menformondragees hatten grundsätzlich dasselbe Ergebnis.

IV. Follikulin-Menformon-Dragees.

Von den Dragees mit Follikulin-Menformon wurden zwei Muster, und zwar ausschließlich unter Verwendung der Benzolextraktion untersucht. Die erhaltenen Daten gibt Tabelle 3 wieder.

Tabelle 3. Follikulin-Menformon-Dragees.

Deklaration: 1 Dragee entspricht 1 mg Oestron = 10000 internat. Einheiten. Stets ölige Extrakte gegen öligen Hausstandard. Die Rattenserie I war im Sommer 1936, II im September 1936, III Anfang und IV Mitte Mai 1937 kastriert worden. Die Zahl der Ratten in jeder Dosierungsgruppe betrug überall 5.

Versuchs-Nr.	Präparat	Rattenserie	Beginn des Versuchs 1937	Zahl der Ratten insgesamt	Dosenabstand in %	Dauer der Injektionsperiode in Tagen	Zahl der Einzeldosen	Mittlere wirksame Gesamtdosis: Dragee $\times 10^{-3}$	Mittlere wirksame Gesamtdosis: γ
7a	Follikulin-Menformon-I	I u. II	21. VI.	40	20	1	1	3,75	
7b	Öliger Hausstandard	I u. II	21. VI.	40	20	1	1		1,59
8a	Follikulin-Menformon-I	III u. IV	26. VI.	40	20	1	1	3,49	
8b	Öliger Hausstandard	III u. IV	26. VI.	40	20	1	1		1,83
9a	Follikulin-Menformon-II	III u. IV	21. VII.	40	20	1	1	4,38	
9b	Öliger Hausstandard		21. VII.	40	20	1	1		1,55
10a	Follikulin-Menformon-II	I u. II	21. IX.	45	20	1	1	4,01	
10b	Öliger Hausstandard	I u. II	21. IX.	35	20	1	1		1,50
11a	Follikulin-Menformon-II	III u. IV	30. VIII.	40	10	3	3	1,44	
11b	Öliger Hausstandard		30. VIII.	40	10	3	3		1,05
12a	Follikulin-Menformon-II	I u. II	23. VIII.	30	20	3	3	1,45	
12b	Öliger Hausstandard	I u. II	23. VIII.	20	20	3	3		1,04

Zu diesen Zahlen ist jedoch noch folgende Anmerkung zweckmäßig: Im Versuch 8 der Tabelle 3 ist die Zahl für den öligen Hausstandard ungewöhnlich hoch [8], obwohl er in kurzen Zeitintervallen zwischen Werte eingegabelt lag, die niedriger waren und untereinander gut stimmten. Aus diesem Grunde erscheint es durchaus berechtigt, wenn nicht geboten, die Einzeldaten bei der Austestung heranzuziehen; sie finden sich auf Tabelle 4.

[8] Vgl. auch Heubner u. Brockmeier: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 356 (1939), Tabelle 2. — NB. dort die falsche Zahl für den Mittelwert 1,50 statt richtig 1,60!

Tabelle 4. Einzelergebnisse bei der Auswertung von „Haus-Standard" im Versuch 8b.

Angewandte (einmalige) Dosen in γ	Von je 5 Ratten Oestrus positiv bei	Angewandte (einmalige) Dosen in γ	Von je 5 Ratten Oestrus positiv bei
1,1	0	2,2	4
1,3	2	2,7	5
1,5	2	3,3	4
1,8	3	4,0	5

Die Berechnung mit dem Maximalwert von 4,0 ergibt die Zahl 1,83 für die mittlere wirksame Dosis. Es ist aber offensichtlich, daß sie zu hoch angenommen wird, daß sie vielmehr zwischen dieser Zahl und derjenigen zu suchen ist, die sich bei Annahme von 2,7 als Maximalwert ergibt, nämlich 1,25. Der Mittelwert von vier sonstigen Testierungen der gleichen Lösung in dem gleichen Zeitraum betrug $1{,}54 \pm 0{,}02$; er liegt also genau auf der Mitte der beiden Grenzwerte für die mittlere wirksame Dosis aus Versuch 8b. Setzt man diese Zahl für die Berechnung des Wirkungswertes des Musters I nach Versuch 8 der Tabelle 3 ein, so findet man eine Zahl, die zu der in dem zweiten gleichartigen Versuch 7 gefundenen ebenso gut übereinstimmt, wie die Zahlen der anderen Doppelversuche (vgl. Tabelle 5). — Die Verwendung des Wertes 4,0 aus Tabelle 4 würde zu einer um 19% zu hohen, die Verwendung des Wertes 2,7 zu einer um ebensoviel zu niedrigen Zahl führen. Dies lehrt übrigens erneut, wie mannigfachen Täuschungen man bei biologischen Auswertungen ausgesetzt sein kann.

Das Gesamtergebnis der Versuchsreihe über Follikulin-Menformon-Dragees ist also folgendermaßen darzustellen (Tabelle 5):

Die Mittelwerte können schwer anders verstanden werden, als daß

1. die Dosierung meßbar hinter dem deklarierten Wert zurücksteht,

2. die in den Dragees enthaltene wirksame Substanz nicht mit Oestron übereinstimmt oder mindestens einen (benzollöslichen) Stoff beigemischt enthält, der von Einfluß auf die Wirkung ist; denn sonst könnte der Unterschied der Anwendungsform (die sich ja in gleicher Weise auf den Standard erstreckte), nicht eine Abweichung von 64% (des Mittelwertes) ergeben. Wie Emmens[9] wenigstens für Mäuse — gezeigt hat, gewinnt Oestriol bei Vermehrung der Einzeldosen von 2 auf 4 (in öliger Lösung) sehr erheblich an Wirksamkeit; die mittlere wirksame Gesamtdosis sinkt etwa auf den 40. Teil. Auch wird die Wirksamkeit dieser Substanz durch unbekannte Harnbestandteile viel stärker erhöht als die von Oestron oder Oestradiol.

Tabelle 5. Wirkungswert je hundertstel Dragee, bezogen auf 1 γ des Hausstandards (erwarteter Wert nach der Deklaration = 1).

Muster Follikulin-Menformon	Injektion	
	einmalig	dreimalig
I	0,43; 0,44	
II	0,35; 0,37	0,70; 0,70

[9] Reports on biological Standards V: Variables affecting the estimation of androgenic and oestrogenic activity. — Medical research Council, Special report Series Nr. 234. London 1939.

Ob die Abweichung von 20% zwischen zwei verschiedenen Mustern des Follikulin-Menformons bei gleicher Applikationsweise noch methodisch bedingt ist oder auch eine gewisse Differenz in der Mischung oder Dosierung verschiedener Muster anzeigt, möchten wir offen lassen.

V. Perlatantabletten.

Von Perlatan wurde nur ein Muster geprüft, weil die Versuche zugleich den oben bereits erörterten methodischen Fragen nutzbar gemacht werden sollten. Doch wurden von der gleichen Packung mehrere verschiedene Einzeltabletten verwendet. Die Art des Vorgehens in jedem Versuch findet sich mit den Ergebnissen auf Tabelle 6 verzeichnet.

Tabelle 6. Auswertung von Perlatantabletten.
Deklaration: 1 Tablette = 0,1 mg kristallisiertes Follikelhormon = 1000 i. E. Stets Ratten der Serie III und IV, kastriert im Mai 1937. Stets fünf Ratten in einer Dosisgruppe.

Versuchs-Nr.	Injizierte Zubereitung	Beginn des Versuchs	Zahl der insgesamt verwandten Ratten	Dosenabstand in %	Dauer der Injektionsperiode in Tagen	Zahl der Einzeldosen	Mittlere wirksame Gesamtdosis	
							Tabl. $\times 10^{-2}$	γ
13 a	Öliger Extrakt	27. VII. 1937	40	20	1	1	3,15	
13 b	Öliger Haus-standard	27. VII. 1937	30	20	1	1		1,53
14 a	Öliger Extrakt	14. IX. 1937	45	10	3	3	1,33	
14 b	Öliger Haus-standard	14. IX. 1937	35	10	3	3		0,88
15 a	Ölige Suspension	2. V. 1938	40	10	3	3	1,32	
15 b	Öliger Haus-standard	2. V. 1938	40	10	3	3		0,99
16 a	Ölige Suspension	29. III. 1938	35	10	2	6	1,29	
16 b	Öliger Haus-standard	29. III. 1938	35	10	2	6		1,15
17 a	Wässerige Suspension	15. XI. 1937	40	10	3	3	1,46	
17 b	Wässerige Progynonlösung	15. XI. 1937	45	10	3	3		1,23
18 a	Wässerige Suspension	8. II. 1938	35	10	2	6	1,20	
18 b	Wässeriger Standard Fw II	8. II. 1938	40	10	2	6		0,80

Tabelle 7. Wirkungswert je hundertstel Tablette Perlatan, bezogen auf 1 γ des = Standards.

Nr.	Form der Anwendung	Dosenzahl und -Verteilung	
13	Öliges Extrakt	1 mal	0,48
14	„ „	3 mal in 3 Tagen	0,66
15	Ölige Suspension	3 „ „ 3 „	0,75
16	„ „	6 „ „ 2 „	0,89
17	Wässerige Suspension	3 „ „ 3 „	0,85
18	„ „	6 „ „ 2 „	0,67

Tabelle 7 gibt die auf den Standard bezogenen Werte wieder. An diesen ist zunächst bemerkenswert, daß die in gleicher Weise dosierten Prüfungen mit dem öligen Extrakt und der öligen Suspension leidlich übereinstimmende Werte geliefert haben, nämlich 0,66 und 0,75. Überdies beruht dieser Unterschied auf verschiedener Reaktion gegenüber dem Vergleichsstandard, während die absoluten Werte des Extraktes und der Suspension mit 1,33 und 1,32 genau übereinstimmen. Die Gegenwart von suspendiertem Tablettenmaterial führt also bestimmt nicht zu einer verminderten Ausnutzung des Follikelhormons. Bemerkenswert ist ferner, daß die Anwendung des gleichen öligen Extraktes gegenüber dem ölgelösten Standard wiederum bei verschiedener Applikationsform (stets sowohl für das Extrakt wie für das Standardpräparat) einen beträchtlichen Unterschied ergab und gleichfalls wiederum im gleichen Sinne, wenn auch nicht gleichen Grade, wie bei Folliculin-Menformon: das Extrakt erschien bei einmaliger Injektion — im Verhältnis zum Standard — deutlich weniger wirksam als bei dreimaliger (mit einer etwa 16%igen beiderseitigen Abweichung vom Mittel). Auf der anderen Seite war die wässerige Suspension bei zweitägiger Anwendung (gegenüber der dreitägigen) längst nicht um den hohen Betrag (von 50%) wirksamer wie die wässerige Lösung des Oestrons; wenn auch das Vergleichspräparat nicht genau dasselbe war, so stand doch dessen Wirkungsverhältnis recht gut in Übereinstimmung mit unseren sonstigen und den von Koll und Nocken[3] gefundenen Zahlen für drei- und zweitägige Zufuhr. Daher scheint auch bei voller Einschätzung der durch das suspendierte und injizierte Pulver ermöglichten Adsorption die Summe aller Beobachtungen schwer verständlich ohne die Annahme, daß auch im Perlatan nicht reines Oestron enthalten ist. Der beste der beobachteten Wirkungswerte — bei Aufteilung der öligen Suspension in 6 Dosen über 2 Tage — lag bei 0,89, also nur um 11% niedriger als die der Deklaration entsprechende Standardmenge; diese Abweichung liegt im Bereich der methodischen Fehler. Hält man sich also an diesen Wert, so ist unser Befund als übereinstimmend mit der Deklaration des Perlatans anzuerkennen. Doch legen die Ergebnisse der Tabelle 7 erneut die Schlußfolgerung nahe, die bereits in der früheren Arbeit[10] ausgesprochen wurde, daß nämlich eine Angabe auf Grund einer biologischen Wertbestimmung selbst bei Bezug auf einen Standard erst durch Angabe des Auswertungsverfahrens eindeutig wird. Emmens[11] geht neuerdings so weit, daß er es überhaupt für unmöglich erklärt, unreine Präparate auf einen Standard zu beziehen.

VI. Fontanontabletten.

Fontanon wurde nur in öliger und wässeriger Suspension mit entsprechenden Standardlösungen verglichen. Die Ergebnisse finden sich auf Tabelle 8. Sie sind leider nicht so gut brauchbar wie die vorher mitgeteilten Auswertungsserien, weil sich aus nicht übersehbaren Gründen die Ratten

[10] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **186**, 156 (1937). — [11] A. a. O. [9], S. 19/20.

mehrmals etwas atypisch verhielten, z. B. in kurzen Zeitintervallen ihre Empfindlichkeit beträchtlich änderten. So erklärt sich auch die Erhöhung des Dosenabstandes in einigen der aufgeführten Versuche bis zu 25 und 30%, sowie die Unsicherheit der unter Schätzung gewonnenen Angaben in den Versuchen 20b und 21a. Mehrere der von uns aufgeführten Versuche mußten überhaupt ganz verworfen werden.

Am besten brauchbar scheinen uns von Tabelle 8 die Versuche 19 und 26, d. h. diejenigen mit dem geringsten Dosenabstand und gleichen und ausreichenden Tierzahlen für das geprüfte Präparat und den Standard. Sie liegen zeitlich weit auseinander und betreffen eine ölige und eine wässerige Suspension von zwei verschiedenen Mustern Fontanon-Dragees. Die Er-

Tabelle 8. Auswertung von Fontanondragees.
Deklaration: 1 Dragee = 500 i. E. Zwei Muster I und II. Stets Ratten der Serie V, kastriert im Mai 1938; stets fünf Tiere in einer Dosisgruppe. Stets Suspension des Präparats.

Versuchs-Nr.	Injiziert	Beginn des Versuchs	Zahl der insgesamt verwandten Ratten	Zahl der zur Berechnung verwandten Ratten	Dosenabstand in %	Dauer der Injektionsperiode in Tagen	Zahl der Einzeldosen	Mittlere wirksame Gesamtdosis	
								Tabl. × 0,02	?
19a	Fontanon I ölig	31. VIII. 1938	40	35	10	3	3	1,19	
19b	Öliger Hausstandard	31. VIII. 1938	40	35	10	3	3		1,22
20a	Fontanon I ölig	26. IX. 1938	40	40	20	3	3	0,87	
20b	Öliger Hausstandard	26. IX. 1938	40	30	20	3	3		(0,89?)
21a	Fontanon I ölig	31. X. 1938	40	30	20	3	3	(1,56?)	
21b	Öliger Hausstandard	31. X. 1938	40	20	30	3	3		1,45
22	Fontanon I ölig	21. XI. 1938	45	25	20	3	3	1,32	
23	Fontanon I wässerig	15. XII. 1938	35	30	25	2	6	0,84	
24a	Fontanon I wässerig	10. I. 1939	20	20	25	2	6	0,67	
24b	Wässeriger Standard Fw II		48	30	25	2	6		0,89
25a	Fontanon II wässerig	9. II. 1939	40	30	25	2	6	1,51	
25b	Wässeriger Standard Bw III	9. II. 1939	40	35	25	2	6		0,97
26a	Fontanon II wässerig	7. III. 1939	40	30	18			1,28	
26b	Wässeriger Standard Bw III	7. III. 1939	40	30	18	2	6		1,14

Tabelle 9. Wirkungswert je fünfzigstel Dragee Fontanon, bezogen auf 1 γ des Standards.

Suspensionsart	Dosenzahl und -Verteilung	Ergebnisse		Mittel
		Muster I	Muster II	
Ölig	3mal in 3 Tagen	1,02; (1,02?) (0,89?)		0,97
Wässerig	6 „ „ 2 „	1,33	0,64; 0,89	

gebnisse liegen für das hundertstel Dragee bei 1,02 und 0,89 des Standards, also beide nahe genug der Einheit. Die Abweichung dieser Werte untereinander beträgt 7 % von ihrem Mittel, kann demnach nicht als reell angesehen werden.

Die aus je zwei weiteren Parallelversuchen gewonnenen Werte sind nicht so befriedigend: bei öliger Suspension war ihre Berechnung nicht ganz frei von Schätzung, bei wässeriger Suspension wichen sie beide — nach verschiedenen Richtungen — weit von der Einheit ab. Im ganzen läßt jedoch das auf Tabelle 9 wiedergegebene Bild den Schluß zu, daß Fontanondragees die deklarierte Menge Oestron ohne eine für die Wirkung in Betracht kommende Beimengung enthalten. (Bei Perlatan hatte sich aus zwei mit gleicher Methodik ausgeführten Versuchen — statt 0,97 — der Mittelwert 0,71 ergeben.)

VII.

Setzen wir die günstigsten unserer mit öligen Dispersionsmitteln erhaltenen Werte in Vergleich zu denjenigen von Koll für die gleichen Präparate (freilich nicht für die gleichen Herstellungschargen!), so sind keine sehr schwerwiegenden Abweichungen zu verzeichnen, wie die Zusammenstellung auf Tabelle 10 zeigt.

Tabelle 10. 1 deklarierte Einheit = i. E.

Präparat	Frankfurt	Berlin
Follikulin-Menformon	0,79 0,80	0,70
Perlatan	0,96 0,96	0,98
Fontanon	1,39 0,95	1,02

Zusammenfassung.

1. Unter Benutzung von kastrierten Ratten wurden verschiedene Verfahren zur Auswertung von Oestronpräparaten zur innerlichen Darreichung ausprobiert. Die Injektion von Suspensionen in öligem oder wässerigem Medium ließ an den benutzten (von Organpulver freien) Präparaten keine Abweichung gegenüber der Injektion von Benzolextrakten in öliger Lösung erkennen.

2. Das Präparat „Fontanon-Dragees“ erwies sich als übereinstimmend mit der Deklaration. Dagegen deuteten die Ergebnisse bei „Folliculin-Menformon-Dragees“ sowie „Perlatan-Tabletten“ darauf hin, daß gegenüber der Deklaration qualitative und wohl auch quantitative Abweichungen vorlagen, die allerdings nach ihrem Ausmaß bei der therapeutischen Verwendung nicht allzu schwer wiegen dürften.

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Freiburg i. Br.
(Direktor: Prof. Dr. med. H. Bohnenkamp.)

Experimentelle Untersuchungen über die Ausscheidungsgröße des Thalliums in verschiedenen Körperflüssigkeiten.

Von

Joachim Frey und **Maria Schlechter.**

(Eingegangen am 12. August 1929.)

Anlaß der Untersuchungen bot eine kriminelle Thalliumvergiftung einer 18jährigen Frau R., die alle Merkmale dieser Intoxikation wie Alopezie, Blutungen, Erbrechen, Polyneuritis usw. bot [Darstellung des Krankheitsfalles bei Bohnenkamp (1)]. Noch am 35. Tag nach Beginn der Vergiftung wurde im Erbrochenen mäßig viel Thallium (Tl) nachgewiesen, während der Kot zur gleichen Zeit anscheinend eine kleinere Giftmenge enthielt. Daraus ergab sich die Fragestellung, ob bei der Eindickung des Darminhalts im Dickdarm Tl wieder rückresorbiert wird, wie es z. B. für das Morphin bekannt ist; und weiterhin: wenn dies der Fall ist, wäre zu erwägen, welche therapeutischen Eingriffe Erfolg versprechen, Tl aus dem Darmkanal und damit aus dem Körper zu entfernen. Tierversuche sollten über den Tl-Gehalt des Darminhalts und seine Ausscheidungsgröße in verschiedene Körperflüssigkeiten Auskunft geben. Es wurden daher nach Vergiftung mittels subcutaner Gabe quantitative Bestimmungen des Tl in Magensaft, Dünn- und Dickdarminhalt, Harn, Blut, Blasengalle, Pfortaderblut, schließlich an Milch und fötalem Gewebe vorgenommen.

Als Versuchstiere dienten Kaninchen, die neben der Möglichkeit leichter häufiger Blutentnahmen den Vorteil besitzen, nicht zu brechen und somit unkontrollierbare Giftmengen zu entfernen. Die Vergiftungen geschahen durch subcutane Injektionen einer wässerigen Lösung von Thalliumacetat unter die Rückenhaut, um die Ausscheidungen im Magen-Darmkanal rein zu erhalten. Methodische Einzelheiten, wie Größe der Injektionen, Vergiftungserscheinungen usw., werden bei den folgenden Versuchsbeispielen genannt.

Die quantitativen Thalliumbestimmungen wurden nach dem spektrographischen Verfahren von Gerlach (2) ausgeführt. Sie geschehen durch Vergleichung homologer Linienpaare, d. h. man bedient sich einer Hilfssubstanz, die jeweils in bekannter, gleich großer Menge dem Untersuchungsgut zugefügt wird. Die Spektren des Untersuchungselements und des Vergleichselements entstehen also unter den gleichen Bedingungen und eine Änderung der Anregungs- und Aufnahmevorgänge wird sich daher in gleicher Weise auf beide Elemente auswirken. Das Intensitätsverhältnis der beiden, verschiedenen Elementen zugehörigen Linien wird erhalten bleiben, auch wenn die absolute Schwärzung der einzelnen Linien von einem Spektrum zum anderen schwankt. Damit ist durch Vergleich mit Tl-Lösungen bekannter Konzentration eine quantitative Bestimmung möglich. Eichaufnahmen

wurden mit fast allen untersuchten Flüssigkeiten vorgenommen. Bei Verwendung des Lanthans als Vergleichsstoff zeigten sich jedoch so große Intensitätsunterschiede dieser Linien in den einzelnen Medien — möglicherweise durch gegenseitige Beeinflussung der Analysenbestandteile —, daß ein anderer Stoff, nämlich Quecksilber, gewählt wurde, der Intensitätsschwankungen nur in sehr geringem Maße zeigte. [Dies verschiedenartige Verhalten des Lanthans in den einzelnen Untersuchungsflüssigkeiten gab Anlaß eines genaueren Studiums, van Calker (3)]. Für die quantitative Bestimmung wurde für das Tl die Linie 2767,9 Å, für das Hg die Linie 2536,0 Å gewählt.

Schwierigkeiten boten die quantitativen Bestimmungen des Tl im Kot. Verfunkungen eingedampften Kotes, elektrolytische Abscheidung des Tl und Veraschungen führten nicht zu brauchbaren Ergebnissen. Als durchführbar zeigte sich schließlich eine Nachweisart, wie sie auch von Lewin (4) angeführt wird, die einfache Extraktion mit angesäuertem Wasser. Eine bekannte Menge fein pulverisierten, bis zur Gewichtskonstanz getrockneten Kotes wurde mit einer bestimmten Menge Wassers längere Zeit kräftig geschüttelt, dann zentrifugiert; die klare, von Kotpartikeln befreite Flüssigkeit, in der sich — wie anzunehmen — das Tl des Kotes gelöst hatte, diente zur spektroskopischen Bestimmung; sie ergab Relativwerte, aus denen der Tl-Gehalt des Kotes unter Berücksichtigung seines früheren Wassergehalts und der später zur Herauslösung hinzugefügten Flüssigkeitsmenge zu berechnen ist. Somit war technisch die quantitative Untersuchung aller zu bestimmenden Körperausscheidungen ermöglicht.

Wie groß ist die im Magen ausgeschiedene Thalliummenge? Es seien vorerst zwei Versuche angeführt, wobei der Magensaft einmal mittels einer Sonde, das andere Mal direkt aus dem eröffneten Magen des narkotisierten Tieres entnommen wurde.

1) 17. 6. 37. Kaninchen, ♀, 2200 g. Subcutane Injektion von 300 mg Thalliumacetat. Verschlechterung des Befindens nach 4 Stunden. Keine charakteristischen Vergiftungserscheinungen. Tier 10 Stunden 20 Minuten nach Injektion getötet.

Zeit nach Injektion	Blut mg% Tl	Magensaft mg% Tl	Zeit nach Injektion	Blut mg% Tl	Magensaft mg% Tl
20 Min. . . .	0,62	0,30	5 Std. 00 Min.	0,85	0,64
1 Std. 15 Min.	2,50	1,10	7 „ 35 „	—	0,70
3 „ 15 „	0,95	0,50	10 „ 20 „	0,95	0,75

2) 5. 7. 37. Kaninchen, ♂, 2200 g. Subcutane Injektion von 300 mg Thalliumacetat. Vorher Laparotomie des mit Urethan narkotisierten Tieres (1 g/kg), Eröffnung des Magens, Annähen der Schnittränder des Magens an die eröffnete Bauchwand, Unterbindung des Pylorus, Klammerverschluß des Magens. Erwärmung des Tieres durch Heizkissen. Nach jeder Entnahme des Magensaftes mittels Pipette Ausspülen mit physiologischer Kochsalzlösung und Austupfen des Magens.

Zeit nach Injektion	Blut mg% Tl	Magensaft mg% Tl	Zeit nach Injektion	Blut mg% Tl	Magensaft mg% Tl
12 Min. . . .	1,90	0,70	1 Std. 15 Min.	1,10	0,90
30 „ . . .	1,60	0,90	1 „ 45 „	1,30	1,00
50 „ . . .	1,50	0,75	2 „ 30 „	2,00	1,50

Nach dem Tode an Kreislaufschwäche enthält der aus der Blase entnommene Harn 0,35 mg% Tl; auch im Dünn- und Dickdarminhalt war Tl nachweisbar.

Die Versuche zeigen, daß schon einige Minuten nach der subcutanen Injektion Thallium im Magensaft erscheint. Da beide Tiere gleichviel wogen (2200 g) und die gleiche Tl-Menge (300 mg) bekamen, kann ein Vergleich der Resorption des Tl aus dem Depot angestellt werden; sie erreicht nach 2–3 Std. ihren Höhepunkt, wenn auch die einzelnen aufeinanderfolgenden Blutwerte schwanken. In beiden Versuchen liegt jedoch die Konzentration des Magensaftes an Tl unter den Blutwerten in gleicher Zeit. Bemerkenswert ist, daß mit Fortschreiten der Zeit der Tl-Gehalt des Magensaftes sich den Blutwerten mehr und mehr nähert, der Konzentrationsunterschied also kleiner wird. Mit Rückgang des Tl-Gehalts des Blutes verringert sich auch der des Magensaftes. Danach kann also gesagt werden, daß eine Diffusion des Tl vom Blute zum Magensaft vorliegt und der Magen nicht eine Konzentration dieses Stoffes vornimmt.

Körpereigene Substanzen verhalten sich gleichartig; sie erscheinen in einer Konzentration, die bis höchstens zum Blutwert steigt, abgesehen von der Salzsäureabsonderung des Magens. Es seien hier genannt Harnstoff [für Magen-Duodenalsaft und Galle untersucht von Cohen (5), Lucke und Taaks (6), Lucke und Frey (7)], Harnsäure [Magensaft, Lucke (8)], Kochsalz [Lebergalle, Gamble, Monroe, Marsh und Tolan (9), Frey (10)]. Der gleiche Vorgang einer Diffusion ist hier für den Magensaft bei einem körperfremden Stoff, dem Tl, erwiesen. Auch im Dünn- und Dickdarminhalt konnte in dem zweiten Versuch Tl nachgewiesen werden, obwohl der Pylorus künstlich verschlossen war. Danach ist es also auch zu einem Übertritt des Tl in den Darm gekommen.

Vorhergehend wurden zwei Versuche dargestellt, bei denen die Tiere relativ hohe Tl-Dosen bekamen und nach kurzer Zeit eingingen. Man könnte einwenden, daß durch die geringe Versuchsdauer die Magensaftkonzentration nicht zur vollen möglichen Höhe angestiegen ist. Es folgt daher ein Versuch, der sich über 21 Tage erstreckte; das Tier erhielt dreimal kleine Dosen Tl. Neben dem Vergleich der Tl-Konzentrationen des Blutes mit denen des Magensaftes wurde der Tl-Gehalt des Stuhls untersucht und weiter festgestellt, welche Tl-Mengen durch den Harn ausgeschieden werden können.

1. 2. 37. Kaninchen, ♀, 2050 g. Subcutane Gaben von zweimal 11 und einmal 28 mg Thalliumacetat. Nach der dritten Tl-Injektion nimmt die Freßlust ab, nach dem Wurf von fünf Föten am 14. Versuchstage — es war unbemerkt geblieben, daß es sich um ein trächtiges Tier handelte — wird das Befinden schlechter, das Tier ist bewegungsarm, frißt sehr wenig und nimmt schnell an Gewicht ab. Haarausfall ist nicht zu beobachten. Das Tier wurde in einem der üblichen Käfige gehalten, der ein getrenntes Sammeln von Kot und Harn ermöglicht. Magensaftentnahme durch einen dünnen, weichen Katheter mittels Aspiration.

Es zeigt sich in diesem Versuch, daß von den 39 im ganzen gegebenen mg Tl (= 50 mg Tl-Acetat) 14,5 mg durch den Harn wieder ausgeschieden wurden, d. h. 37 %. Nach der 3. Tl-Gabe ist ein sehr deutliches Zurückgehen der Harnabsonderung zu beobachten, während der prozentuale Tl-Gehalt des Harns ansteigt. Man könnte vermuten, daß dem Tier durch die gesunkene Freßlust zu wenig Wasser zur Harnbildung zur Ver-

Tag nach Tl-Injektion	Harn			Stuhl Tl	Blut mg% Tl	Magensaft mg% Tl
	ccm	mg% Tl	mg Tl			
	11 mg Tl-Acetat subkutan					
1. (1)	465	1,000	4,650	+	0,075	0,050
2. (2)	125	0,250	0,310	+	0,075	0,025
3. (3)	142	0,750	1,065	—	—	—
4. (4)	∅	∅	∅	—	—	—
5. (5)	150	0,250	0,390	∅	—	—
	11 mg Tl-Acetat subkutan					
1. (6)	125	1,400	1,750	+	0,100	0,075
2. (7)	102	1,200	1,220	+	0,075	0,020
3. (8)	218	0,400	0,870	+		0,010
4. (9)	∅	∅	∅	+	Spur	Spur
5. (10)	120	0,200	0,240	—	Spur	Spur
6. (11)	128	0,140	0,180	—	Spur	Spur
7. (12)	168	0,100	0,168	—	—	—
	28 mg Tl-Acetat subkutan					
1. (13)	215	0,065	0,140	—	0,250	0,130
2. (14)	68	2,000	1,360	+	0,250	0,220
	5 Föten geworfen					
3. (15)	88	0,900	0,790	∅	0,230	0,210
4. (16)	9	0,600	0,050	∅	0,500	0,400
5. (17)	13	1,400	0,180	∅	0,300	0,250
6. (18)	40	1,200	0,480	∅		0,200
7. (19)						
8. (20)	120	0,600	0,720			
9. (21)						0,055
17. (29)	Tod.					

fügung stände und demnach die Harnmenge ab- und die relative Tl-Menge im Harn zunähme. Dies ist jedoch nur zu geringem Teil der Fall, denn die Absolutmengen des ausgeschiedenen Tl in diesem Versuchsabschnitt gehen gleichzeitig mit der Abnahme der Harnmenge zurück. Es liegt demnach eine Niereninsuffizienz durch Schädigung des Parenchyms vor. Außerdem verlor das Tier durch den Partus Thalliummengen, die sich in den Föten in geringer Menge, in der Plazenta (einschließlich des darin enthaltenen Blutes) deutlich nachweisen ließen. Weiter ist durch den Kot Thallium entfernt worden. Eine genaue Angabe der Werte unterblieb wegen der anfänglichen Unsicherheit der Bestimmungsart im Kot; die Mengen bleiben aber deutlich hinter denen des Harns zurück. Eine gewisse Menge des Thalliums wird dazu noch in den Geweben zurückbehalten, ähnlich wie man es beim Blei auch findet. Es ist noch nicht entschieden, welche Gewebsarten sich daran vorzüglich beteiligen [zusammenfassende Darstellung durch Bohnenkamp (1)]. Daß in diesem Versuchsbeispiel nur 37 % der gegebenen Tl-Menge in 21 Tagen durch den Harn ausgeschieden wurden, liegt nicht zuletzt an der durch das Tl verursachten Niereninsuffizienz. Nach der ersten Tl-Gabe wurden nach 5 Tagen schon 75 % der injizierten Menge durch den Harn ausgeschieden zu einer Zeit, als die Nieren keine Schädigung aufwiesen;

dabei war vom 3. Tag ab (s. Tabelle) in Blut und Magensaft kein Tl mehr nachweisbar, d. h. die Werte lagen unter 1 γ und entgingen damit der Bestimmung, während nach der 3. Tl-Injektion am 5. Tag noch 0,30 mg% Tl im Blut, am 9. Tag danach 0,055 mg% Tl im Magensaft ermittelt wurden. Auch hieraus wird die Niereninsuffizienz gegen Ende des Versuchs deutlich, die bei der Gesamtberechnung der Tl-Ausscheidung durch die Nieren diesen Anteil niedrig hält. Die Niere hat also als Hauptausscheidungsorgan für das Tl zu gelten und nimmt nur dann an Bedeutung ab, wenn im Verlauf einer chronischen Vergiftung Parenchymschädigungen auftreten. — Der letztgenannte Versuch zeigt wieder das gleiche Verhalten von Blut und Magensaft wie vorher beschrieben: niemals wurde eine höhere Konzentration des Magensaftes als des Blutes beobachtet.

Wie verhalten sich die Thalliumkonzentrationen des Inhaltes einzelner Darmabschnitte? Im folgenden wird eine Zusammenstellung aus 6 Versuchen wiedergegeben, die Geschlecht und Gewicht des Versuchstieres, Dosis des gegebenen Thalliums und Zeit der Untersuchung nach der subcutanen Tl-Gabe enthält. Die Tl-Bestimmungen im Darminhalt wurden so ausgeführt, daß das in dem jeweils zu untersuchenden Speisebrei enthaltene Wasser abgepreßt und der Analyse zugeführt wurde. Hinzugefügt sind noch einzelne Bestimmungen der Blasengalle und des Pfortaderblutes.

Herkunft der Prüfstoffe	Nr. 2 ♂, 2,1 kg, 140 mg/kg, nach 11 Std. 30 Min. mg % Tl	Nr. 3 ♀, ?,7 kg, gravide, 86 mg/kg, nach 11 Std. mg % Tl	Nr. 4 ♀, 2,0 kg, 175 mg/kg, nach 13 Std. 00 Min. mg % Tl	Nr. 5 ♂, 2,0 kg, 140 mg/kg, nach 10 Std. 13 Min. mg % Tl	Nr. 6 ♂, 1,6 kg, 140 mg/kg, nach 7 Std. 15 Min. mg % Tl	Nr. 8 ♀, 2,0 kg, 161 mg/kg, nach 11 Std. 00 Min. mg % Tl
Blut	0,80	1,40	1,60	1,20	3,50	0,70
Pfortaderblut	—	—	—	—	—	0,75
Magensaft ..	0,35	1,00	0,60	0,75	2,00	0,55
Blasengalle..	10,00	—	7,50	—	7,50	7,50
Inh. des ob. Dünndarms	3,00	—	2,00	—	5,00	2,50
Inh. des unt. Dünndarms	2,00	—	2,00	—	—	—
Inh. des ob. Dickdarms	2,50	—	2,10	—	—	2,10
Inh des mittl. Dickdarms	—	Diff.	2,00	Diff.	—	—
Inh. des Enddarms	—	100%	—	100%	—	—

Der auffälligste Befund ist der starke Tl-Gehalt des Dünndarms gegenüber dem des Magens und des Blutes: der Magensaft enthält 1,4 bis 3,0 mg%, das Blut 0,4—2,0 mg% Tl weniger als der Dünndarmsaft. Wie aus der Tabelle ersichtlich, nimmt dann im Verlauf der Passage der Tl-Gehalt des Speisebreies im Dünndarm und oberen Dickdarm wenig, zwischen mittlerem Dickdarm und Enddarm dagegen sehr stark ab. Es findet sich also im Darm eine höhere Tl-Konzentration als im Blute selbst,

dem mittelbaren oder unmittelbaren Zwischenträger vom subcutanen Depot zum Darminhalt. Die Stelle des höchsten Tl-Gehalts ist der obere Dünndarm, der Tl-Werte weit über denen des Magens aufweist. Es liegt nahe, den Grund für diese sprunghafte Konzentrationserhöhung in der Mitbeteiligung der großen Verdauungsdrüsen (Leber und Pankreas) zu suchen, zumal die Stelle der höchsten Tl-Werte mit den Einmündungsorten für Gallen- und Pankreassaft zusammenfällt. In der Tat wurden in der Blasengalle sehr hohe Tl-Werte gefunden; sie schwankten zwischen 10,0 und 7,5 mg%. Bekanntlich bewerkstelligt die Gallenblase ihre Eindickungsarbeit der Lebergalle dadurch, daß Wasser und Salze herausgenommen werden, während die hochmolekularen Stoffe, die für die Verdauung benötigt werden, in der Blase angereichert werden; dabei bleibt die Isotonie der Blasengalle mit den Körperflüssigkeiten gewahrt. Möglicherweise spielt das Pseudomuzin als negativ geladenes Kolloid bei der Salzaustreibung eine Rolle [J. Frey (10)]. Wie gefunden, ist auch Tl in hoher Konzentration in der Blasengalle enthalten. Es ist bemerkenswert, daß immer dort die Konzentrationszunahme von Blut zu Dünndarmsaft bzw. von Magensaft zu Dünndarmsaft groß ist, wo auch eine solche erheblichen Ausmaßes von Blut zu Blasengalle vorliegt, wie es die folgende Tabelle darstellt.

Zunahme der Tl-Konzentration von Magensaft zu Dünndarmsaft, Blut zu Dünndarmsaft und Blut zu Galle um das x-fache.

Vers.-Nr.	Magen-Dünndarm	Blut-Dünndarm	Blut-Galle
2	8,4	3,8	12,5
4	3,3	1,3	4,7
6	2,5	1,4	2,1
8	4,5	3,6	10,7

Dies legt die Vermutung nahe, daß die Konzentrationsvergrößerung, die sprunghaft im oberen Dünndarm einsetzt, durch eingedickte Galle hervorgerufen wird; jedoch ist es nicht statthaft, dies als vollgültigen Beweis zu betrachten.

Wir sahen, daß während der Passage des Speisebreies durch den Darm der Tl-Gehalt etwas abnimmt, um zwischen mittlerem Dickdarm und Enddarm stark zu fallen. Dies ist die Darmstelle, wo vornehmlich die Eindickung des Speisebreies durch Wasserentzug vor sich geht. Eine Täuschung, hervorgerufen dadurch, daß etwa noch Speisebrei aus der Zeit vor der Vergiftung sich in den unteren Darmabschnitten befand, also noch keine vollständige Passage vom Magen zum Enddarm vorlag, wurde dadurch vermieden, daß dem Tier, vorher mit Runkelrüben ernährt, jetzt Spinat gegeben wurde; an der grünen Farbe konnte unschwer die vollständige Passage erkannt werden. Im unteren Dickdarm wird nun mit dem Wasser wieder soviel Tl herausgenommen, daß die Tl-Konzentration des Kotes der des

Blutes nahe kommt. Eine Überschlagsrechnung zeigt dies: im Versuch Nr. 5 betrug die Blutkonzentration 1,2 mg%; durchschnittlich erhöht sich die Konzentration des Dünndarmsaftes gegenüber dem Blute um 1,5 mg%, also Dünndarmkonzentration 2,7 mg%; während der Passage tritt eine Abnahme um etwa 0,5 mg% ein, Dickdarmkonzentration 2,2 mg%; zwischen mittlerem Dickdarm und Enddarm wurde eine Abnahme auf die Hälfte gefunden, die Kotkonzentration beträgt demnach 1,1 mg%, gleicht also der Blutkonzentration. Dies zeigt, daß mit dem Kot nur eine solche Thalliummenge entfernt wird, wie sie dem Blut entspricht. Da der Wassergehalt des Kotes relativ gering ist, ist damit auch die ausgeschiedene Giftmenge klein, besonders im Vergleich zum Harn. Eine Anreicherung des Thalliums im Kot, wie im Harn, findet nicht statt.

Noch ein Wort über das Schicksal des aus dem Darm rückresorbierten Thalliums. Dies muß mit dem Pfortaderblut in die Leber zurückgelangen. Und in der Tat sehen wir, daß die Tl-Konzentration des Pfortaderblutes größer ist als die des peripheren Blutes, nämlich Pfortaderblut 0,75 mg%, peripheres Blut 0,70 mg% (Versuch Nr. 8). Es handelt sich daher auch um einen entero-hepatischen Kreislauf des Thalliums; denn das aus dem Darm rückresorbierte Tl gelangt durch die Pfortader zur Leber zurück, wird mit der Galle ausgeschieden und kommt so wieder in den Darm.

Nach früheren Untersuchungen [Erhardt (11), Spitzer (12), Vasarhelyi (13) usw.] ist der Übergang des Tl in die Milch säugender Tiere bekannt. Der Gehalt an Tl soll sehr gering sein; quantitative Bestimmungen sind u. W. nicht ausgeführt worden. Um den Übertritt des Tl vom Blut in die Milch, ferner vom Blut über die Plazenta in die Föten zu zeigen, sei der folgende Versuch angeführt.

12. 7. 37. Kaninchen, in der letzten Woche gravide, 2700 g. 111 mg Tl-Acetat/kg. Noch 10 Stunden nach der Injektion Tier lebhaft und frisch, nach 11 Stunden Tötung, bei der Öffnung werden sieben lebende und fast voll entwickelte Junge entnommen.

Prüfstoffe	mg % Tl	Prüfstoffe	mg % Tl
Muttertier:		Junges:	
Blut	1,4	Herz	+
Magensaft	1,0	Gehirn	+
Milch	1,2	Leber	+
		Niere	++
		Plazenta	++

Thallium geht also in die Milch über, und zwar ist dieser Vorgang gleich dem im Magen; die Konzentrationen kommen sich gleich, die der ausgeschiedenen Flüssigkeiten — außer der des Harns — sind aber nicht höher als die des Blutes, aus dem die Flüssigkeiten stammen. Auch beim Übertritt des Tl vom Blute in die Milch handelt es sich um einen Diffusionsvorgang. — In allen untersuchten Organen der Föten ließ sich ebenfalls Tl

nachweisen, auch im Gehirn, über dessen Tl-Gehalt im Schrifttum nicht übereinstimmend berichtet wird. Testoni (14) betont nach seinen Mäuse- und Kaninchenversuchen eine besondere Anhäufung des Giftes auch im Gehirn; ebenso konnte Bohnenkamp (1) bei Affen und Ratten im Gehirn Tl in Spuren und bis zu 5 γ nachweisen. Unsere Befunde sind eine Bestätigung hierfür. Aus dem allen geht hervor, daß die Plazenta für das Gift durchlässig ist. In der Plazenta selbst war der Tl-Nachweis, wie auch im Versuch vom 1. Februar 1937, positiv. Im übrigen sei erwähnt, daß das trächtige Tier sich gegen das Gift widerstandsfähiger als die übrigen Tiere erwies.

Zum Schluß mögen noch einige therapeutische Überlegungen folgen. Es zeigte sich, daß die Niere als Hauptausscheidungsorgan für das Thallium zu gelten hat. Bei Vergiftungsfällen des Menschen wird man deshalb, sofern nicht eine Nierenschädigung und Niereninsuffizienz vorliegt, eine Steigerung der Diurese anstreben, wobei man zweckmäßig solche Mittel verwendet, die zu einer Glomerulusdiurese [E. Frey (15)] führen, da hiermit die größte Ausscheidung zu erwarten ist. Hierfür ist zu nennen Theophyllin, Salyrgan, Natriumsulfat, Diathermie usw. Da das Thallium vom Dünndarm bis zum mittleren Dickdarm und vor allem in der Blasengalle in höherer Konzentration als im Blute nachweisbar war und auch einen enterohepatischen Kreisweg durchläuft, so ist zur Giftentfernung ein Eingriff hier sicherlich angezeigt. Salinische Abführmittel (Karlsbader Salz, Magnesiumsulfat) dürften am besten zum Ziele führen, da neben wässerigen Stühlen und schneller Darmpassage gleichzeitig auch eine Entleerung der Gallenblase erfolgt. Durch Magenspülungen bei gleichzeitiger Magensaftanregung (Histamin) werden sich gleichfalls Tl-Mengen bei chronischer Vergiftung entfernen lassen.

Zusammenfassung.

Es wurden Kaninchenversuche mit Thalliumvergiftung (subcutane Injektion einer wässerigen Tl-Acetatlösung) angestellt und die Tl-Konzentrationen im Blut, Pfortaderblut, Magensaft, Blasengalle, Dünn- und Dickdarm, Kot, Harn, Milch sowie Plazenta und fötalem Gewebe spektrographisch nach der Gerlachschen Untersuchungsart bestimmt. Dabei findet sich:

1. Als Hauptausscheidungsorgan ist die Niere anzusehen.

2. Schon wenige Minuten nach der Injektion des Giftes erscheint Tl im Magensaft. Seine Konzentration ist abhängig von der Blutkonzentration, die sie nie ganz erreicht.

3. Beim Verfolgen des Tl-Gehalts des Darminhalts findet sich eine sprunghafte Konzentrationserhöhung im oberen Dünndarm (über die Blutkonzentration), die bis zum mittleren Dickdarm etwas abnimmt, um im Enddarm etwa die Blutkonzentration wieder zu erreichen. Für die Konzentrationserhöhung im oberen Dünndarm wird das Hinzukommen der stark

thalliumhaltigen Blasengalle verantwortlich gemacht; die Konzentrationsabnahme im Enddarm geschieht durch den Eindickungsvorgang des Darminhaltes.

4. Thallium ist auch einem entero-hepatischen Kreislauf unterworfen.

5. Thallium geht in die Milch in einer Konzentration über, die gering unter der des Blutes liegt.

6. Auch die Plazenta ist für Tl durchlässig. Im fötalen Gewebe (Herz. Gehirn, Leber, Niere) wurde das Gift in größeren Mengen nachgewiesen.

7. Trächtige Tiere zeigen bei gleichen Dosen keine allgemeinen Vergiftungserscheinungen wie andere Tiere. Die abortive Wirkung des Tl wird bestätigt.

8. Auf Grund der gefundenen Ausscheidungsvorgänge werden therapeutische Vorschläge für Vergiftungsfälle gemacht.

Literatur.

1) Bohnenkamp: Neue Deutsche Klinik, 4. Ergänzungsbd., 472 (1936). — 2) Gerlach u. Schweitzer: „Die chem. Emissionsspektralanal.", 1930. — 3) van Calker: Zbl. anorg. u. allg. Chem. **234**, 182 (1937). — 4) Lewin: „Gifte u. Vergiftungen." Lehrb. d. Toxikologie 1929, S. 314ff. — 5) Cohen, Biochem. Z. **139**, 516 (1923). — 6) Lucke u. Taaks: Z. exper. Med. **79**, 238 (1931). — 7) Lucke u. Frey: Ebenda **86**, 1 (1933). — 8) Lucke: Ebenda **70**, 468 (1930). — 9) Gamble, Monroe, Marsh u. Tolan: J. exper. Med. **48**, 849 (1928). — 10) Frey, J.: Z. exper. Med. **95**, 13 (1934). — 11) Ehrhardt: Klin. Wschr. **6**, Nr. 29, 1374—1375 (1927). — 12) Spitzer: Arch. Derm. (D.) **140**, H. 3, 429—438 (1922). — 13) Vasarhelyi: Derm. Wschr. **1928**, II, 1741—1744. — 14) Testoni, zit. nach Esser: Dtsch. Z. gerichtl. Med. 1936, S. 264—276. — 15) Frey, E.: Klin. Wschr. **1937**, I, 289.

Aus dem Institut für Pharmakologie und experimentelle Therapie der Universität Breslau. (Direktor: Prof. Dr. O. Eichler.)

Versuche an Kaninchen über die Beeinflussung von Harnmenge und Harnchlor durch einmalige Injektionen von Coffein und von destilliertem Wasser.

Von

Hubert Vollmer und Herbert Grünig.

(Eingegangen am 3. August 1939.)

In langfristigen Bilanzversuchen an Ratten wurde festgestellt [1], daß die einmalige subcutane Injektion von Coffein Veränderungen der Harnmenge und der Ausscheidung von Kalium, Natrium und Chlor über mehrere Tage bewirkt. Es zeigte sich fernerhin, daß auch subcutane Injektionen von destilliertem Wasser in Mengen von 0,1—0,5% des Körpergewichts die Harnmenge und die genannten Harnbestandteile veränderten. Auch diese Wirkung hielt einige Tage an. Die unter verschiedenen Bedingungen erhobenen Befunde [2] ließen auf eine wesentliche Beteiligung extrarenaler Faktoren schließen.

Die Untersuchungen unterscheiden sich von den früheren Versuchen zahlreicher Autoren über die bekannte Purinkörperdiurese prinzipiell durch die Kontrolle der Wirkung über mehrere Tage. In den früheren Arbeiten, in denen z. T. auch die Vermehrung der Chlorausscheidung, vereinzelt die vermehrte Ausscheidung anderer Mineralstoffe festgestellt und die Bedeutung extrarenaler Faktoren bei der Purindiurese in Erwägung gezogen wurde, war die Wirkung bestenfalls über einen Tag verfolgt worden.

Im Rahmen des gesamten Arbeitsprogramms sollten die nachstehend geschilderten Versuche die Wirkung einmaliger Injektionen von Coffein oder von destilliertem Wasser an einer anderen Tierart, am Kaninchen, prüfen.

Versuchsanordnung.

Unsere Versuche wurden an 51 ungefähr gleich großen Kaninchen (1,8—2,5 kg Gewicht) durchgeführt. Diese erhielten pro Tag 300 g Futterrüben als Nahrung. Die Rübendiät wurde gewählt, weil hier der Gehalt an Wasser und Chlor weitgehend konstant ist. Die Tageszufuhr pro Tag betrug:

Wasser	273 ccm
Chlor	735 mg

Beim Übergang von wasser- und chlorärmerem Mischfutter auf Rübenfutter stellt sich die Harnmenge im allgemeinen nach 2—3 Tagen auf konstante Werte ein. Dagegen retinieren die Tiere verschieden lange Zeit (5 Tage bis 3 Wochen)

[1] Vollmer u. Mitarbeiter: Arbeiten zum Teil in diesem Bande. — [2] Die Versuche mit variierter Mineralzufuhr werden später veröffentlicht.

beträchtliche Chlormengen. Diese Zeit kann dadurch verkürzt werden, daß man zu Beginn des Versuchs für einige Tage große Rübenmengen (600 g) verfüttert. In einigen Versuchen wurden während solcher Tage bei einer Zufuhr von fast 1500 mg Chlor in der Nahrung nur 150–300 mg Chlor im Harn ausgeschieden. Tiere unseres eigenen Tierstalles, die eine Normalkost mit reichlich Rüben über längere Zeit gefressen hatten, stellten sich innerhalb spätestens einer Woche auf konstante Chlorwerte ein. Diese Werte bleiben mit geringen Schwankungen über Wochen bestehen. Wir haben es allerdings vermieden, die Versuche über 20 Tage nach Einstellung auf konstante Werte auszudehnen, da bei Fütterung ausschließlich mit Rüben über Wochen die Tiere plötzlich erkranken und rasch sterben (Kontrollversuche zum Teil aus früheren Untersuchungen). Innerhalb unserer Versuchsperiode blieben die Gewichte praktisch konstant. Die Versuche wurden so ausgeführt, daß in den einzelnen Tierserien (5–7 Tiere) nicht alle Tiere gleichzeitig Coffein bzw. Wasser erhielten. Die Kaninchen verblieben während der gesamten Versuchsdauer in den Diuresekäfigen.

Die Versuche beschränkten sich auf die Feststellung der Tagesharnmenge und der täglichen Chlorausscheidung. Die Chlorbestimmung im Harn erfolgte in üblicher Weise nach Volhard. Bei der Chlorbestimmung in den Rüben wurden diese entweder erschöpfend ausgekocht oder sofort bei der Anwesenheit von $AgNO_3$ mit HNO_3 klar gekocht (Prinzip des „offenen Carius").

Normalwert. Bei der Sichtung des Versuchsmaterials haben wir zunächst die nach der eindeutigen Einstellung der Tiere ermittelten Einzelwerte zu Normalwerten für jedes einzelne Tier, danach für die einzelnen Dosen von Coffein bzw. Wasser zusammengefaßt. Dabei ergaben sich so einheitliche Werte sowohl hinsichtlich der Harnmenge als auch hinsichtlich des Harnchlors, daß wir für die endgültige Auswertung des Materials einen einzigen Normalwert für die Ausscheidung von Wasser aus 217 Einzelwerten, für die Ausscheidung von Chlor aus 190 Einzelwerten verwendeten.

Diese Normalwerte betrugen:

für die Harnmenge ..... $253{,}5 \pm 1{,}8$ ccm
für das Harnchlor ..... $718 \pm 7{,}75$ mg

In diesen Werten ist in üblicher Weise die Streuung des Durchschnittswertes errechnet worden.

Auswertung. Bei der Auswertung der einzelnen Versuchsgruppen haben wir dort, wo es möglich war, ebenfalls die Streuung der Durchschnittswerte für die einzelnen Versuchstage errechnet. Außerdem wurden in allen diesen Fällen die Differenzen und die Streuungen dieser Differenzen in bekannter Weise ermittelt und in den Tabellen angegeben.

I. Wirkung der Injektion von destilliertem Wasser auf Harnmenge und Harnchlor.

Über die Wirkung subcutaner Injektion kleiner Mengen von Wasser auf Harnmenge und Harnchlor liegen Literaturangaben nicht vor. Bei den bereits erwähnten Untersuchungen an Ratten waren die Kontrollversuche mit destilliertem Wasser angestellt worden, um eine Beteiligung möglicher Wirkungen der Injektion an sich an den Befunden der Coffeinversuche aus-

zuschließen. Nachdem sich bei den Ratten eine Verminderung der Chlorausscheidung am 1. Tage und eine Steigerung der Chlor- und Wasserausscheidung am 3. Tage nach der Wasserinjektion ergeben hatte, war eine entsprechende Prüfung bei unseren Kaninchen selbstverständlich. Über die Ergebnisse dieser Versuche geben Tabelle 1 für die Beeinflussung der Harnmenge und Tabelle 2 für die Beeinflussung des Harnchlors Aufschluß. In diesen Tabellen sind die Durchschnittswerte für die verschiedenen injizierten Wassermengen zusammengefaßt. Pro kg Tier wurden 1, 2, 3, 6 oder 9 ccm destilliertes Wasser injiziert, entsprechend den Flüssigkeitsmengen bei der Injektion von 10, 20, 30, 60 oder 90 mg Coffein/kg.

Harnmenge. Wie die Tabelle 1 zeigt, wurden die meisten Versuche mit den Dosen 2 und 3 ccm/kg durchgeführt. Die übrigen Dosen waren entsprechend dem Ausfall der Coffeinversuche von geringerem Interesse. Die Durchschnittswerte der Tabelle und die ebenfalls verzeichneten Diffe-

Tabelle 1. Beeinflussung der Harnmenge durch subcutane Wasserinjektion.

Dosis in ccm/kg	Zahl der Tiere	Durchschnittswerte in ccm					Differenzen gegenüber Normalwert				
		1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
1	3	247	282	235	242	250	− 6,5	+ 28,5	− 20,5	− 13,5	− 3,5
2	11	261,4 ± 114	250,9 ± 17	249,5 ± 17,9	238,6 ± 6,5	250	+ 7,9 ± 11,5	− 2,4 ± 17,1	− 4 ± 18	− 14,9 ± 6,7	− 3,5
3	11	248 ± 12,4	243,6 ± 6,3	248 ± 4,9	240 ± 9,1	236,3 ± 7,2	− 5,5 ± 12,5	− 10,5 ± 6,6	− 5,4 ± 5,3	− 13,5 ± 9,3	17,2 ± 7,4
6	2	252	227	267	257	250	− 1,5	− 16,5	+ 13,5	+ 3,5	− 3,5
9	3	248	232	263	245	270	+ 5,5	− 21,5	+ 9,5	8,5	+ 16,5

Tabelle 2. Beeinflussung des Harnchlors durch subcutane Wasserinjektion.

Dosis in ccm/kg	Zahl der Tiere	Durchschnittswerte in mg					Differenzen gegenüber Normalwert				
		1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
1	3	660	761	771	824	724	+ 58	+ 43	+ 53	+ 106 (+ 14,8 %)	+ 6
2	11	764,5 ± 32,6	766,1 ± 43,5	730,6 ± 34,5	705,4 ± 37,5	824,2	+ 46,5 ± 33,5	+ 48,1 ± 44,2	+ 12,6 ± 35,4	− 12,6 ± 38,3	+ 106,2
3	11	777,3 ± 39,2	698,1 ± 43,9	699,8 ± 26,6	710,3 ± 35,6	693,4 ± 17,3	+ 59,3 ± 41,2	+ 19,9 ± 44,6	− 18,2 ± 27,7	− 7,7 ± 36,5	− 24,6 ± 19,0
6	2	515	754	520	759	619	− 203	+ 36	− 208	+ 41	− 99
9	3	720	547	652	718	723	(− 28,3 %) ± 2	− 171 (− 23,8 %)	− 66 (29,0 %)	0	(13,8 %) − 5

renzen gegenüber dem Normalwert lassen keine Beeinflussung der Harnausscheidung durch die Wasserinjektion erkennen. Die Differenzen gegenüber dem Normalwert betragen im allgemeinen erheblich weniger als 10% und sind außerdem nicht statistisch echt.

Harnchlor. Tabelle 2 zeigt folgendes: Die subcutane Injektion von 1, 2 oder 3 ccm Wasser/kg bewirkt innerhalb von 5 Tagen keine Veränderung der Chlorausscheidung. Der Wert von + 14,8% am 4. Tage nach der Injektion von 1 ccm/kg kann unberücksichtigt bleiben, da in dieser Gruppe nur drei Versuche angestellt wurden. Es sei erwähnt, daß die bei einigen Tieren durchgeführte Untersuchung über noch mehrere Versuchstage bei den genannten Dosen ebenfalls keine Wirkung ergab. Anders liegen die Verhältnisse bei der Injektion großer Wassermengen (6 und 9 ccm). Hier kommt es zu beträchtlichen Verminderungen der Chlorausscheidung um 20—30% innerhalb der ersten Tage nach der Wasserinjektion. Auch wenn man die Werte für die Versuche mit beiden Dosen zusammenfaßt, ergeben sich am 1., 2. und 3. Tage Verminderungen um mehr als 10%.

Die vorstehend geschilderten Versuche zeigen, daß die subcutane Injektion kleiner Flüssigkeitsmengen (0,1—0,3% des Körpergewichts) beim Kaninchen keine Änderungen der Harnmenge und des Harnchlors bewirkt. Bei den Coffeinversuchen mit den entsprechenden Dosen kann somit ein Einfluß der Injektion ausgeschlossen werden. Bei höheren Wassermengen wird die Harnausscheidung ebenfalls nicht beeinflußt, dagegen kommt es zu Verminderungen der Chlorausscheidung, an die bei den Coffeinversuchen zu denken wäre. Beim Kaninchen liegen die Dinge also anders als bei der Ratte.

II. Wirkung der Injektion von Coffein auf Harnmenge und Harnchlor.

Unsere Untersuchungen umfassen Dosen von 10—90 mg Coff./kg. Verwendet wurde eine 1%ige Lösung von Coffeinum purum. Die Verhältnisse werden in Tabelle 3 und 4 an Hand der Durchschnittswerte dargestellt [3]. Für die Dosen 20 und 30 mg/kg sind die Verhältnisse bei männlichen und weiblichen Tieren gesondert dargestellt, weil sich zum Teil Unterschiede ergaben. Die Untersuchungen erstreckten sich über mindestens 5 Tage nach der Coffeininjektion, bei einem großen Teil der Tiere über 6—8 Tage.

Harnmenge. Die Auswertung in Tabelle 3 zeigt, daß das Coffein beim Kaninchen anders wirkt als bei der Ratte. Die Dosen 10 und 20 mg/kg sind völlig wirkungslos. Bei den höheren Dosen ergab sich eine Vermehrung der Tagesharnmenge lediglich am ersten Tage. Diese Vermehrung ist geringfügig (um 15%), außerdem wird sie bei zwei von drei Versuchsgruppen durch eine Verminderung am nächsten Tage ausgeglichen. Bei den Ver-

[3] Die Einzelwerte sind in einer Dissertation (Grünig, Breslau 1939) niedergelegt.

Tabelle 3a. Beeinflussung der Harnmenge durch subcutane Coffeininjektion.

a) Befunde.

Geschlecht	Dosis in mg kg	Zahl der Tiere	Durchschnittswerte in ccm					
			1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag
	10	4	255	235	244	259	240	237
männl.	20	8	253,3 ± 16,5	226,1 ± 18,4	250,6 ± 18,8	283 ± 19,9	247,1 ± 11,6	237,1 ± 8,2
weibl.	20	5	256 ± 16,8	247 ± 17,8	249 ± 13.8	228 ± 4,4	252 ± 7,6	250
männl.	30	13	290 ± 9,1	206,1 ± 11	247 ± 11,1	268,5 ± 9,6	266,3 ± 11,8	239,4 ± 14,8
weibl.	30	7	267,1 ± 13,1	225,6 ± 24,2	242,8 ± 9,1	270 ± 10,1	271,6 ± 14,5	261.2
	60	5	290 ± 18	214 ± 24,4	273 ± 18,1	267 ± 7,3	241 ± 9,4	240
	90	6	296 ± 16,8	197,8 ± 14,7	220 ± 28,1	236 ± 19	256,7 ± 16	250,8 ± 18,2

Tabelle 3b. Beeinflussung der Harnmenge durch subcutane Coffeininjektion.

b) Auswertung der Befunde.

Dosis in mg/kg	Differenz gegenüber Normalwert						Änderung in %	
	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	1. Tag	2. Tag
10	+ 1,5	− 18,5	− 9,5	+ 5,5	− 13,5	− 16,5	—	—
20	+ 0,2 ± 16,6	− 27,4 ± 18,5	− 2,9 ± 18,9	+ 29,6 ± 20,2	6,4 ± 11,7	− 16,4 ± 8,4	—	—
20	+ 2,5 ± 16,9	− 6,5 ± 17,9	− 4,5 ± 13,9	− 25 ± 4,7	− 1,5 ± 7,8	− 3,5	—	—
30	+ 36,5 ± 9,2	− 47,4 ± 11,1	6,5 ± 11,3	+ 15 ± 9,7	+ 13,5 ± 11,9	− 14,1 ± 14,9	+ 14,4	− 18,7
30	+ 13,6 ± 13,2	+ 27,9 ± 24,2	− 10,7 ± 9,2	+ 17,0 ± 10,3	+ 18,1 ± 14,6	+ 7,7	—	—
60	+ 36,5 ± 18,2	− 39 ± 24,5	+ 19,9 ± 18,2	+ 13,5 ± 7,5	12 ± 9,6	− 13,5	+ 14,4	—
90	+ 42,5 ± 16,9	− 55,7 ± 14,8	− 33,5 ± 28,1	− 17,5 ± 19	+ 3,2 ± 16,1	− 2,7 ± 18,3	+ 16,8	− 22,0

Tabelle 4a. Beeinflussung des Harnchlors durch subcutane Coffeininjektion.

a) Befunde.

Geschlecht	Dosis in mg/kg	Zahl der Tiere	Durchschnittswerte in mg					
			1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag
	10	4	779	753	655	723	782	788
männl.	20	8	729,7 ± 65,8	534,6 ± 52,3	604,2 ± 41,2	878,4 ± 73,4	559,1 ± 24.1	651,8 ± 42,6
weibl.	20	5	844,6 ± 74	701,8 ± 70,3	774,6 ± 59,7	669 ± 60,9	699,2 ± 12,6	745
männl.	30	13	991 ± 85	606,1 ± 76	799 ± 52	866,5 ± 41	929,2 ± 61	692 ± 15
weibl.	30	7	822,7 ± 55,9	607,3 ± 110	623,4 ± 46,1	692 ± 26,9	844,7 ± 86,4	708 ± 31,5
	60	5	965,8 ± 132	616,4 ± 38,9	565,4 ± 41,7	627,2 ± 44	718,9 ± 27,8	850
	90	6	948,3 ± 78,5	532,7 ± 61,6	467,5 ± 61	545 ± 88,2	830 ± 62,9	669,2 ± 97,9

Tabelle 4b. Beeinflussung des Harnchlors durch subcutane Coffeininjektion.

b) Auswertung der Befunde.

Dosis	Differenz gegenüber Normalwert						Änderung in %				
	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
10	+ 61	+ 35	− 63	+ 5	+ 64	+ 70	—	—	—	—	—
20	+ 11,7 ± 66,2	−183,4 ± 52,9	−113,8 ± 41,9	+160,4 ± 73,8	+ 41 ± 25,3	66,2 ± 43,3		−25,6	−15,9	+22,3	
20	+126,6 ± 74,4	− 16,2 ± 70,5	+ 56,6 ± 60,6	− 49 ± 61,3	− 18,8 ± 14,8	+ 27	—	-		—	
30	+273 ± 85,3	−111,9 ± 76	+ 81 ± 53	+148,5 ± 42	+211,2 ± 61,7	− 26 ± 17	+38	—		+20,6	+29,4
30	+104,7 ± 56,4	−110,7 ± 110	− 94,6 ± 46,7	- 26 ± 28	+126,7 ± 86,7	10 ± 32,5	+14,6		—	—	—
60	+247,8 ± 132	101,6 ± 39,6	−153 ± 42,5	- 90,8 ± 44,8	+ 0,9 ± 28,9	+ 132	—	−14,2	−21,3	—	—
90	+230 ± 78,9	−285 ± 62,1	−250,5 ± 61,5	−172,2 ± 88,5	+ 112 ± 64,1	- 49 ± 98,2	+32	−39,7	− 34,8	−23,9	+15.6

suchen mit 60 und 90 mg genügt die Feststellung einer Harnvermehrung nicht strengen Maßstäben der Statistik. Wir nehmen sie trotzdem als gesichert an, weil die Streuung in den Versuchen mit 60 mg durch einen sehr niedrigen Wert stark vergrößert ist und weil eine Zusammenfassung der Befunde bei 60 und 90 mg kg zu einem Ergebnis führt, das auch bei Anlegung strenger Maßstäbe echt ist. Außerdem gehen die Verhältnisse denen der 30-mg-Versuche an männlichen Tieren parallel. Jenseits des zweiten Tages nach der Coffeininjektion wurde in keiner der Versuchsgruppen eine Abweichung von der normalen Harnausscheidung festgestellt. Bemerkenswert ist die Tatsache, daß in den Versuchen mit 30 mg/kg die weiblichen Tiere anders reagierten als die männlichen, d. h. überhaupt keine Harnvermehrung aufwiesen.

Harnchlor. Die nach Coffeininjektionen beobachteten Änderungen der täglichen Chlorausscheidung werden durch die Tabelle 4 demonstriert. Die Beeinflussung der Chlorausscheidung geht der Wirkung auf die Harnmenge nicht parallel, ein Befund, der auch in den vorangegangenen Rattenversuchen erhoben wurde. Die Dosis 10 mg/kg erwies sich auch hier als wirkungslos. Auffallend ist allerdings, daß die am 5. und 6. Tage ermittelten Durchschnittswerte um rund 10 % über dem Normalwert liegen. In den Versuchen mit 20 und 30 mg/kg zeigten sich Unterschiede zwischen den männlichen und weiblichen Tieren. Bei den Böcken sind die Befunde nach 20 mg/kg schwer zu deuten. Einem normalen Wert am 1. Tage folgen statistisch einwandfreie Verminderungen am 2. und 3. und eine allerdings nicht echte Vermehrung am 4. Tage. Bei 30 mg/kg dagegen ist die am 1. Tage nach der Injektion ausgeschiedene Chlormenge um rund 40 % erhöht. Einer Verminderung am 2. Tage folgt dann eine Vermehrung über 3 Tage. Diese Vermehrung ist am 4. und 5. Versuchstag völlig eindeutig. Sie ist mit 20 bzw. 30 % auch nicht unerheblich. Man muß diese Befunde dahin deuten, daß 20 mg/kg Coffein zwar den Chlorhaushalt schon beeinflussen, daß aber erst 30 mg/kg eine eindeutige Wirkung aufweisen.

Der Ausfall dieser Versuche zeigt einwandfrei, daß einmalige Coffeininjektionen auch beim männlichen Kaninchen eine über mehrere Tage anhaltende Wirkung auf den Mineralhaushalt besitzen.

Die weiblichen Tiere dagegen weisen bei der Dosis 20 mg/kg, abgesehen von einer nicht einmal eindeutigen Vermehrung des Harnchlors am 1. Tage, keine Veränderungen auf. Eine derartige Veränderung am 1. Tage findet sich auch bei den mit 30 mg/kg behandelten Weibchen. Hier kommt es zu Verminderungen am 2. und 3. Tage und zu einer mäßigen und nicht eindeutigen Vermehrung am 5. Tage. Bei den weiblichen Tieren ist somit eine Coffeinwirkung über längere Zeit nicht festzustellen, allenfalls in den 30-mg-Versuchen eine stärkere Schwankung der Chlorwerte.

Bei den Dosen 60 und 90 mg/kg beginnt offenbar die toxische Dosis des Coffeins. Zwar zeigte sich bei 90 mg/kg am 1. Tage nach der Injektion noch eine vermehrte Chlorausscheidung, doch ist diese durch beträchtliche

Chlorverminderungen an den drei Folgetagen erheblich überkompensiert. Nach 60 mg/kg traten nur Verminderungen auf. Wir legen bei diesen Versuchen mehr Wert auf die Feststellung des Ausbleibens einer Chlorvermehrung als auf die Feststellung der Verminderungen, da unsere Versuche mit entsprechenden Wassermengen (s. Tabelle 1) ebenfalls erniedrigte Chlorwerte ergeben hatten.

Die Coffeinversuche zeigen folgendes: Anders als bei der Ratte wird beim Kaninchen die Harnmenge nur während des 1. Tages nach der Injektion beeinflußt. Demgegenüber ist hinsichtlich der Chlorausscheidung ein analoges Verhalten der Kaninchen festzustellen, denn es zeigten die Versuche mit 30 mg/kg bei den männlichen Tieren eindeutige Steigerungen der Chlorausscheidung am 4. und 5. Tage nach der Injektion. Offenbar ist die Wirkungsbreite des Coffeins hinsichtlich dieser Wirkung wesentlich geringer als bei der Ratte. Während die Rattenversuche im Prinzip gleichartige Beeinflussung der Mineralausscheidung bei Dosen von 10—100 mg/kg Tier ergeben hatten, finden wir beim Kaninchen eine Wirkung nur bei 30 mg/kg, während 20 mg/kg noch nicht und 60 mg/kg nicht mehr auf die Chlorausscheidung im Sinne einer Vermehrung an späteren Versuchstagen wirkten. Bemerkenswert ist ferner der bisher unbekannte Unterschied der Coffeinwirkung bei männlichen und weiblichen Tieren. Ein solcher Unterschied wird verständlich, da an der geschilderten Coffeinwirkung offensichtlich vorwiegend extrarenale Faktoren beteiligt sind. Unter diesen extrarenalen Faktoren wird man in erster Linie an einen Einfluß endokriner Organe denken müssen.

Zusammenfassung.

Am Kaninchen wurde die Wirkung einmaliger Injektionen von destilliertem Wasser und von Coffein auf die Harnmenge und auf die Ausscheidung von Harnchlor über mehrere Tage verfolgt. Diese Versuche ergaben folgendes:

1. Die subcutane Injektion kleiner Mengen von destilliertem Wasser bewirkt keine Veränderungen. Größere Flüssigkeitsmengen haben Verminderung der Chlorausscheidung zur Folge.

2. Die subcutane Injektion von Coffein führt in einem breiteren Dosierungsbereich lediglich am 1. Tage zur Harnvermehrung. Bei der Dosis 30 mg/kg zeigte sich eine eindeutige und beträchtliche Vermehrung des Harnchlors am 4. und 5. Tage nach der Injektion. Kleinere und größere Dosen lassen diese Wirkung vermissen.

3. Die Versuche ergaben ferner einen deutlichen Wirkungsunterschied bei weiblichen und männlichen Tieren.

Aus dem Institut für Pharmakologie und Experimentelle Therapie der Universität Breslau. (Direktor: Prof. Dr. O. Eichler.)

Vergleich der Tachyphylaxie von r- und l-Veritol und r-Ephedrin.

Von

Arnold Smiatek.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 3. August 1939.)

Es ist außerordentlich schwer, bei Substanzen, die die Eigenschaft der Hervorrufung der Tachyphylaxie haben, gerade die Größe dieser Tachyphylaxie zu messen. Man kann nun so verfahren, daß man in bestimmten Abständen zwei Dosierungen appliziert, und mißt, wieviel bei der zweiten Injektion die Abnahme der Wirkung beträgt. Hier erhebt sich die Frage des zeitlichen Abstandes dieser Injektion. Eine weitere Schwierigkeit besteht bei unseren Versuchsobjekten in dem verschiedenen Zustand des Kreislaufes während der verschiedenen Injektionen, die vielleicht in einem verhältnismäßig weitläufigen Zeitraum notwendig sind. Wenn man bei dieser Art der Messung eine primär kleine Wirkung hat, wird es außerordentlich schwer sein, eine Verminderung der zweiten Injektion einigermaßen genau zu messen. Eine weitere Forderung, die man stellen könnte, wäre deshalb das vollkommene Verschwinden der in das Blickfeld gezogenen Reaktionen. Als Maß der Tachyphylaxie bestände dann die Möglichkeit, die Zahl der Injektionen bis zum Verschwinden anzugeben. Jeder Substanz wäre also nur eine ganze Zahl zuzuordnen, wobei die Auswahl der in Betracht kommenden Zahlen klein ist. Das für diesen Zweck notwendige Tiermaterial wäre dann zu groß.

Wir sind nun so vorgegangen bei der Untersuchung der Blutdrucksteigerung von Substanzen der Adrenalingruppe, daß wir eine Dauerinfusion vornahmen, und zwar mit einer Menge, die bei den einzelnen Substanzen etwa die gleiche Blutdrucksteigerung hervorrief. Dieses Verfahren wandten wir an zum Vergleich der optischen Isomeren r- und l-Veritol untereinander und mit Ephedrin.

Als Versuchstiere wählten wir 16 Katzen, deren Gewicht 2,0—2,5 kg betrug. Der Blutdruck wurde in der üblichen Weise an der Carotis gemessen. In die Vena jugularis wurde die jeweilige Substanz im langsamen Strom und unter Berücksichtigung möglichst kleiner Flüssigkeitsmengen eingeführt. In einigen Vorversuchen wurde die für unseren Zweck geeignete Dosierung ausfindig gemacht. Ephedrin mußte 7 mal höher dosiert werden, um einen gleichen Erfolg wie bei Veritol zu erzielen. Wir wandten nun in

allen folgenden Versuchen 20—30 γ kg und Min. l-Veritol und r-Veritol und 140—180 γ/kg und Min. Ephedrin an.

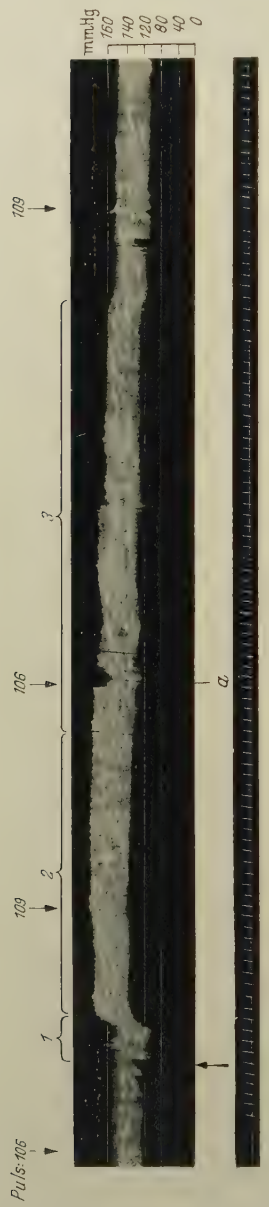


Abb. 1. Veritol rechts: Katze 2,6 kg; Urethan; ▲ Dauerinfusion von 23 γ pro kg und Min.; a = Störung im Registrierapparat. 1. Dauer bis zum max. Anstieg nach Einsetzen der Dauerinfusion. 2. Dauer des max. Anstieges. 3. Dauer bis zur Rückkehr zum Ausgangswert.

Bei der Auswertung unserer Versuche sind wir so vorgegangen, daß wir die Zeit bis zum maximalen Anstieg ermittelten, wobei wir immer den Abschluß der stärksten Drucksteigerung und nicht den genauen Höchststand wählten. Die hierbei etwa auftretende Ungenauigkeit im Erfassen dieses Punktes ist so gering, daß wir sie für unseren Zweck als unwesentlich vernachlässigen können. Ferner betrachten wir die Zeit, während der die Erhöhung des Blutdruckes auf gleichem Plateau bleibt. Außerdem messen wir die Zeit bis zur Rückkehr zum Ausgangswert. Abb. 1 soll das Vorgehen bei der Auswertung unserer Versuche veranschaulichen.

Bei allen unseren Versuchen mit l- und r-Veritol ist nach Beginn der Infusion, dann aber auch im weiteren Verlauf des Versuchs keine Pulserhöhung zu verzeichnen gewesen; anders bei Ephedrin. Hier kam es trotz Einsetzens der Infusion zu einer Steigerung bis auf 160 Schläge in der Minute, als Zeichen vermehrter Reizbildung, während dieser Effekt bei Veritol durch die Blutdruckzügler verhindert wurde. Jedoch auch bei Ephedrin kehrte im weiteren Verlauf des Versuchs der Puls zur Norm zurück.

Um einen genauen Überblick über unsere Versuche zu erhalten, fassen wir die Einzelversuche jeder Substanz zusammen und geben die dabei gefundenen Werte auf Tabelle 1 wieder.

Aus den angegebenen Daten entnehmen wir vorerst einen deutlichen Unterschied in der Wirkung der beiden optischen Antipoden des Veritols. Dieser Unterschied ließ sich bisher bei den verschiedenartigen üblichen Untersuchungsmethoden nicht erbringen [1], ist aber hier in verschiedenen Punkten deutlich, da die Größe der Dosie-

[1] Lindner u. Göpfert: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 675 (1938).

Tabelle 1.

Substanz	Durchschn. Dosis in γ/kg pro Min.	Systol. Anstieg in mm Hg	Diastol. Anstieg in mm Hg	Zeit bis zum max. Anstieg	Dauer bis Ende des max. Anstiegs	Zeit bis zur Rückkehr zur Norm	Verbr. Menge bis Ende d. max. Anstiegs in mg	x-fache der Dosierung/ Min./kg.
Veritol, links ..	26,4	50	31	5,2	49,3	88,4	2,4	90,9
Veritol, rechts .	23,7	34	31	4,1	25,2	54,8	1,7	71,9
Ephedrin	149	35	23	0,5	15,6	40,3	5,1	34,2

rung etwa gleich ist. Am deutlichsten ist der Unterschied in der Dauer des maximalen Anstiegs. Wir würden nach diesem Unterschied die Aussage machen, daß die Geschwindigkeit der Tachyphylaxie bei r-Veritol größer ist. Vielleicht hängt das mit der stärkeren Amplitudenvergrößerung zusammen, aus der man mit aller Vorsicht eine Beeinflussung des Herzens ablesen kann. In früheren Versuchen[2] hatte sich ergeben, daß auch dann noch, wenn das Gefäßsystem (Blutdruck) keinen Effekt auf Veritolgabe zeigte, beim Herzen noch eine Wirkung bzw. sogar Superposition der Wirkungen möglich war, womit die tachyphylaktische Reaktion am Herzen sich als geringer ergeben würde in Übereinstimmung mit unserer obigen Behauptung.

Wenn wir die Dauer bis zur Rückkehr auf die vorherige Blutdruckhöhe mit der Dauer der Drucksteigerung nach einmaligen Gaben vergleichen, dann sehen wir, daß die Dosierungen ungeheuer verschieden sind. Die Gaben sind bei Infusion vielfach größer (vielleicht zehnfach) als bei einmaliger Gabe. Wir müssen also annehmen, daß von einer gewissen Zeit ab die infundierten Mengen keine Wirkung mehr haben, so daß der Zustand der Tachyphylaxie auch schon während der Blutdrucksteigerung erreicht ist. Man kann dabei nicht entscheiden, ob eine Beschleunigung der Rückkehr zur Norm eintritt, also der einmal in Gang gesetzte Prozeß in der glatten Muskulatur des Gefäßsystems auch negativ beeinflußt werden kann, was wir nicht annehmen würden, da die negative sekundäre Phase bei der Katze kaum vorhanden ist und nach weiteren Versuchen auf anderen Gründen beruht.

Während die beiden Veritole zwar Unterschiede zeigen, aber in ihrer Wirkung doch beisammen liegen, sieht man einen Abstand gegenüber r-Ephedrin. Trotz etwa gleicher Blutdrucksteigerung ist ihre Dauer sehr viel kürzer, und zwar schon in der Geschwindigkeit des Eintritts der Wirkung. Man wird also die Geschwindigkeit der Tachyphylaxie hier größer finden als beim Veritol. Der Eintritt der Tachyphylaxie hängt (neben dem Zufuhrwert) auch von der absoluten Dosierung ab. Es ist nicht unbedingt gesagt, daß sie mit der pressorischen Wirkung zusammengeht. Wenn die Empfindlichkeit des Kreislaufs eines Tieres groß ist, dann wird man mit einer kleineren Dosierung denselben Effekt erreichen, wie sonst bei einer größeren Gabe. Geht diese Empfindlichkeit aber nicht mit der Tachyphylaxie zu-

[2] Eichler, O.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 429 (1937).

sammen, dann kann man sehen, daß diese sehr viel später auftreten kann oder vielleicht übersehen wird. Das ist hier der Fall beim Menschen, der gegenüber Veritol empfindlicher ist, und beim dekapitierten Tier. Will man hierin nun Ephedrin und Veritol vergleichen, dann muß die Empfindlichkeit in Betracht gezogen werden, also die Berücksichtigung der Infusionsgeschwindigkeit, die man als Einheit annimmt. Dieser Vergleich ist gegeben in der letzten Spalte und man sieht auch hier beim Ephedrin die raschere Tachyphylaxie. Wir vermeiden es, schon jetzt auf die Theorie von Gaddum über die Tachyphylaxie einzugehen. Denn wenn sie auch den einzigen ernsthaften Versuch zur Erklärung dieses Phänomens darstellt, ist sie doch durchaus nicht befriedigend.

Anzufügen wäre hier noch die schon früher angeführte Beobachtung [2], daß dann, wenn der Kreislauf gegen eine der beiden untersuchten Substanzen unerregbar wird, auch die anderen unwirksam werden, und zwar selbst, wenn zwischen dem Aufhören der einen Infusion und der Prüfung mit einer anderen Substanz ein Zeitraum von 6 Stunden liegt. Früher [2] war schon angegeben worden, daß nach 9 Stunden der Beginn einer neuen Wirkung zu beobachten ist.

Zusammenfassung.

Bei Dauerinfusion mit r- und l-Veritol ergibt sich, daß die Wirkung der l-Modifikation länger bestehen bleibt als die der optischen isomeren Verbindung. Die Wirkung von Ephedrin bei dem gleichen Effekt erschöpft sich schon viel früher.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Studien über Methämoglobinbildung.

XV. Mitteilung.

Von

Béla von Issekutz jun., Budapest.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 7. August 1939.)

I.

Durch Untersuchungen von Schwedtke und Lo-Sing[1] waren verschiedene Probleme aufgeworfen worden, die eine weitere experimentelle Bearbeitung erforderten: Einmal hatte sich für Anilin ergeben, daß bei wachsenden Dosen die gebildete Methämoglobinmenge keineswegs gleichmäßig stieg, daß sie vielmehr in gewissen Dosenbereichen konstant blieb, zwischen denen sie ziemlich sprunghaft in die Höhe ging. Zweitens hatte sich bei Nitrobenzol und den drei isomeren Dinitrobenzolen gezeigt, daß trotz naher chemischer Verwandtschaft die je Zeiteinheit und Dosis gebildeten Mengen Methämoglobin sehr stark — etwa um das 200fache — variierten, und zwar ansteigend in der Reihenfolge Nitrobenzol, Ortho-, Meta- und Para-Dinitrobenzol. Endlich war über die Wirkung des Alkohols für Anilin festgestellt worden, daß er vor allem den Abbau der einmal gebildeten Menge Methämoglobin verzögerte; Aminophenol schien sich nach zwei Versuchen von Schwedtke grundsätzlich gleichartig zu verhalten.

Bei dieser Sachlage erschien es für allgemeinere Schlußfolgerungen und für die Theorie der Methämoglobinbildung von Bedeutung, deren Verhalten in allen diesen Richtungen kennenzulernen, also systematisch die noch gebliebenen Lücken auszufüllen, ferner noch weitere Methämoglobinbildner in gleicher Weise zu prüfen, d. h. vor allem in bezug auf die Abhängigkeit der gebildeten Methämoglobinmenge von der Dosis und den Einfluß von Alkohol darauf. Auch der zeitliche Ablauf der Methämoglobinbildung und Rückbildung war von Interesse. Die von mir im Anschluß an Schwedtke und Lo-Sing untersuchten Substanzen waren Para-Aminophenol und die drei isomeren Dinitrobenzole; dazu nahm ich neu Natriumnitrit und Phenylhydroxylamin. Diese letztgenannte Substanz bereitete ich mir selbst nach der bekannten Methode von E. Bamberger und A. Wohl, so daß ich stets mit frisch hergestellter, rein weißer Substanz arbeiten konnte.

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 121, 130, 138, 143 (1937).

II. Methodik.

Die Untersuchungen wurden an Katzen von 1700 –3000 g Gewicht durchgeführt, die gewöhnlich 0,5 g Urethan je kg subcutan erhielten. Blutproben wurden in einer Menge von etwa 3 ccm aus der in Äthernarkose präparierten Carotis communis zu bestimmten Zeiten entnommen, die erste vor der Eingabe der methämoglobinbildenden Substanz, die weiteren $^1/_2$, 1, 2, 3 usw. Stunden nach der Eingabe derselben. So wurde die Zeit des Höhepunktes der Methämoglobinbildung festgestellt; meist beschränkte ich mich in weiteren Versuchen mit der gleichen Substanz auf die Bestimmung des Methämoglobingehalts in diesem Zeitpunkte.

Das entnommene Blut wurde mit Glasperlen defibriniert, mit destilliertem Wasser vierfach verdünnt und 15 Minuten stehengelassen, so daß es vollkommen hämolysiert war.

Die Bestimmung des Methämoglobingehalts erfolgte in einer Reihe von Versuchen mit zwei verschiedenen Methoden. Erstens bestimmte ich, wie die erwähnten früheren Untersucher[1] mit Hilfe von Ferricyanid nach der Haldane-Barcroftschen Methode die Sauerstoffkapazität des Blutes manometrisch in Warburg-Gefäßen; aus der Verminderung der O_2-Kapazität gegenüber dem Normalblut wurde der Methämoglobingehalt der Blutprobe berechnet. Natürlich wurden alle Blutproben vor der Analyse gründlich mit Luft geschüttelt. Verwendet wurde stets 1 ccm einer aufs Vierfache verdünnten Blutlösung. Die Gefäßkonstanten wurden nach der bekannten Formel eingesetzt:

$$K = \frac{V_g \frac{T_0}{T} + V_f \cdot a}{P_0},$$

wobei $V_g + V_f$ das Gesamtvolumen des Gefäßes in mm², V_f die Summe der benutzten Blut- und Ferricyanidlösung, T die absolute Temperatur des Wasserbades, T_0 273° und P_0 10 000 mm Wasser bedeuten. Die erhaltenen Werte bedeuten demnach mm² O_2 bei 760 mm Hg und 0° C. Sie wurden noch entsprechend der angenommenen Sauerstoffsättigung mit 0,96 dividiert, dann zur Berechnung der Hämoglobinmenge mit dem Faktor 17/22,4, endlich noch zur Reduktion auf g in 100 ccm mit 0,4 multipliziert. Die photometrische Methode unter Verwendung des von Havemann angegebenen lichtelektrischen Meßinstrumentes[2] wurde bereits beschrieben[3] und ist kurz die folgende: Durch geeignete Filter wurde das Licht im wesentlichen auf den roten Anteil des Spektrums beschränkt. Von dem vierfach verdünnten Blut wurde 1 ccm zu 10 ccm Phosphatpuffer vom $p_H = 6{,}5$ gegeben. Durch Zusatz von einigen Tropfen Cyankaliumlösung wurde das Methämoglobin in Cyanmethämoglobin umgewandelt und aus der — infolge der Umwandlung eingetretenen —

[2] Biochem. Z. **301**, 105 (1939). — [3] Havemann, Jung, v. Issekutz: Ebenda **301**, 116 (1939).

Extinktionsveränderung der Methämoglobingehalt des Vollblutes errechnet. Die Schichtdicke betrug 5 mm; die Eichkurve wurde für die bequeme Blutverdünnung 1 : 11 angelegt, doch wurde nach Bedarf auch ein Vielfaches davon verwendet.

Der Gehalt des Blutes an Gesamthämoglobin wurde in der Weise bestimmt, daß das achtmal verdünnte Blut mit einigen K_3FeCN_6-Kriställchen versetzt und dadurch die gesamte Hämoglobinmenge in Methämoglobin umgewandelt wurde; die Messung erfolgte nun wie vorher.

Beide Methoden haben gewisse Grenzen ihrer Genauigkeit. Immerhin lehrte ein Vergleich — wie er ähnlich bereits in der früheren Arbeit [3] durchgeführt wurde —, daß ihre Übereinstimmung für die Zwecke dieser Untersuchung recht befriedigend war: In mehreren Versuchen wurden jeweils an den gleichen Blutproben beide Verfahren benutzt. Dabei wurde allerdings die Differenzbestimmung des Methämoglobins nicht aus der Differenz der Sauerstoffkapazität vor und nach der Vergiftung vorgenommen, sondern aus der Differenz des kolorimetrisch ermittelten Gesamthämoglobins und der aus der Sauerstoffkapazität berechneten Menge an Oxyhämoglobin. Übrigens zeigte sich dabei, daß die bei der vorgenannten, früher allgemein geübten Berechnung stets vorausgesetzte Konstanz des Gesamtblutfarbstoffs auch während der Vergiftung tatsächlich nicht immer zutraf. Vielmehr zeigte sich zuweilen von der zweiten Stunde an eine mehr oder weniger deutliche Tendenz zur Verdünnung des Blutes (vielleicht infolge der wiederholten Aderlässe?). In drei Versuchen mit je 15 mg Para-Aminophenol je kg subcutan fand ich für Gesamthämoglobin folgende Zahlen (Tabelle 1).

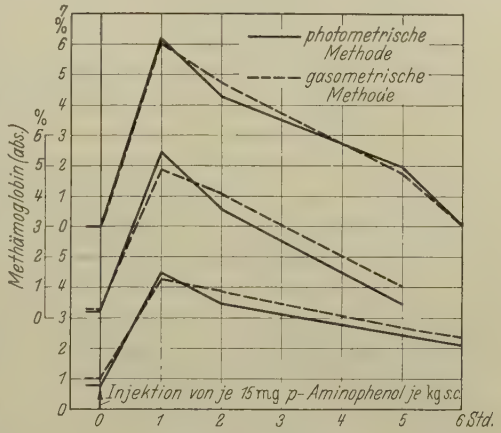


Abb. 1.

Tabelle 1. % Gesamthämoglobin.

Versuchs-Nr.	Tiergewicht kg	Aus der Sauerstoffkapazität	Vor der Vergiftung	Photometrisch				
				1	2	4½	5	6
				Stunden nach der Vergiftung				
1	1,7	11,4	10,7	10,5	10,5	10,2		10,0
2	2,1	13,2	13,5	13,3	11,9		10,4	
3	2,2	7,7	8,7	8,3	8,1			6,5

Auf der Abb. 1 sind die Ergebnisse der Methämoglobinbestimmung in denselben drei mit beiden Methoden ausgeführten Versuchen angegeben.

Die gestrichelte Linie zeigt die mit der Haldane-Barcroftschen, die ausgezogene Kurve die mit der Havemannschen Methode erhaltenen Werte. Die ausreichende Übereinstimmung der mit beiden Methoden erhaltenen Werte hat mich veranlaßt, in den weiteren Versuchen zur quantitativen Bestimmung des Methämoglobingehalts ausschließlich die viel bequemere und zeitsparende lichtelektrische Methode anzuwenden.

III. Para-Aminophenol.

Nach einigen Vorversuchen wurde die Substanz zu 15 mg je kg in neutraler Lösung subcutan gegeben. Die auf der Abb. 2 verzeichneten Ergebnisse verdienen zunächst einen Vergleich mit den von Schwedtke[1] für das Anilin ermittelten. Da ist vor allem ein sehr bemerkenswerter

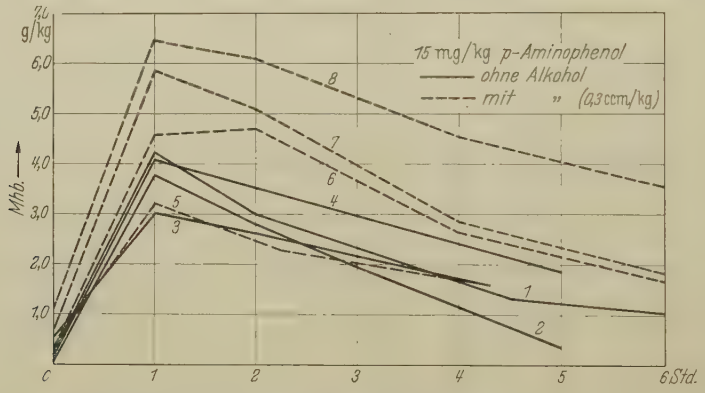


Abb. 2. Versuche 1—4 mit je 15 mg Aminophenol je kg, Versuche 5—8 ebenso, doch außerdem je 0,3 ccm Alkohol je kg. Methämoglobinwerte als g je 70 ccm Blut, also summarisch je kg Körpergewicht.

Unterschied des zeitlichen Ablaufs hervorzuheben: Schwedtke fand das Maximum der Methämoglobinbildung bei Anilin nach 3—4 Stunden, während es bei Aminophenol schon um die erste Stunde erreicht war. Dies dürfte ein Ausdruck für die bei Anilin erforderliche Umwandlung des unwirksamen Amins in das aktive Oxydationsprodukt sein.

Die auf der Kurventafel 2 angegebenen Werte für den Methämoglobingehalt des Blutes sind als g je kg Körpergewicht berechnet, indem 70 ccm Blut auf das kg angenommen wurden.

[Auch die weiterhin folgenden Werte für das gebildete Methämoglobin sind stets als g je kg Körpergewicht verzeichnet. Dies erleichtert die Übersicht über die quantitativen Beziehungen zwischen Dosis (je kg Körpergewicht!) und Effekt. Ohne Zweifel ist eine solche Berechnung nicht unbedenklich. Denn sie vernachlässigt die absolute Menge Blutfarbstoff auf die Gewichtseinheit, die für das Ausmaß der Umsetzungen keineswegs gleichgültig ist. Katzen werden ja unter Stallbedingungen leicht anämisch,

so daß die Hämoglobinwerte auf 100 ccm Blut von 14 15 bis auf 8 g sinken können.]

Die in den Versuchen 1—4 der Kurventafel 2 nach Ablauf der ersten Stunde der Vergiftung erhaltenen Werte für das Methämoglobin entsprechen etwa einem fünftel bis einem viertel Millival; demgegenüber betrug die angewandte Menge Aminophenol etwa ein siebentel Millimol. Das Verhältnis der entstandenen Äquivalente Methämoglobin zu den angewandten Molen Aminophenol betrug also etwa $1^1/_2$. Die Wirksamkeit lag somit in derselben Größenordnung wie bei entsprechenden Dosen Anilin (vgl. Schwedtke[1]).

Die bereits (auf S. 553, vgl. Abb. 1) besprochenen drei Kurven für den zeitlichen Ablauf der Methämoglobinbildung nach der kolorimetrischen Ermittlung sind mit einer vierten gleichartigen nochmals auf Abb. 2 verwendet, wo sie 4 weiteren Kurven gegenübergestellt sind, die die Ergebnisse unter gleichzeitiger Alkoholwirkung zeigen. Stets wurde unmittelbar nach dem Aminophenol 0,3 ccm 96%iger Alkohol je kg in 10facher Verdünnung subcutan gegeben. Die Versuche lehren, daß der Alkohol auch bei Aminophenol die Bildung des Methämoglobins zu erhöhen vermag, während die bei Anilin so charakteristische Verzögerung der Rückbildung nicht auffällig hervortritt; vielleicht mag man sie – vor allem im Verlauf der zweiten Stunde — angedeutet finden. Dabei ist jedoch wohl zu berücksichtigen, daß der zeitliche Verlauf der Methämoglobinbildung bei Anilin und Aminophenol von vornherein verschieden ist.

Die von Schwedtke[1] (S. 136) — ohne Kenntnis dieser zeitlichen Differenzen — nach Aminophenolvergiftung ermittelten Werte für Methämoglobin mit und ohne Alkohol beziehen sich auf die Zeit von 3 bis 4 Stunden nach der Vergiftung. Seine Dosen von 2—6 mg je kg lagen weit unter den für die Versuche der Abb. 2 genommenen Dosis von 15 mg je kg. Die Umrechnung seiner Zahlen auf g Methämoglobin je kg Körpergewicht ist in Tabelle 2 wiedergegeben. Man erkennt bei Vergleich mit Abb. 2, daß sie sich trotz der geringeren Dosis gut in den von mir ermittelten zeitlichen Ablauf einordnen.

Tabelle 2. Nach Angaben von Schwedtke[1].

Versuchs-Nr. von Schwedtke, S. 136	Anfangsgehalt an Hämoglobin %	Dosis je kg		Alkohol	Stunden nach der Vergiftung	Methämoglobin je kg	
		mg	Millimol			g	Millival
62	12	2	0,02	0	$3^1/_2$	1,3	0,08
61	12	6	0,06	0	$3^1/_2$	3,2	0,19
64	14	2	0,02	+	4	2,4	0,14
63	12	6	0,06	+	3	3,6	0,22

Die Ergebnisse einiger eigener Versuche mit kleineren Dosen finden sich auf Tabelle 3. Diese Werte sind niedriger als die von Schwedtke,

ebenso aber auch als die bei der höheren Dosis von 15 mg. Sie reichen nicht aus, um sichere Schlüsse über die Abhängigkeit der Methämoglobinbildung von der Dosis zu ziehen.

Tabelle 3.

Versuchs-Nr.	Anfangsgehalt an Hämoglobin %	Dosis je kg		Stunden nach der Vergiftung	Methämoglobin je kg	
		mg	Millimol		g	Millival
9	14	4	0,04	4	0,9	0,05
		4		6	0,4	0,02
10	14	6	0,06	2	1,5	0,09
		6		$4^1/_2$	0,9	0,05
		6		6	0,3	0,02
11	12	10	0,09	1	1,2	0,07
		10		2	1,6	0,10
		10		4	1,1	0,07
		10		6	0,6	0,04

Immerhin fällt es bei Betrachtung dieser Zahlen und Vergleich mit den von Schwedtke[1] (S. 128) für Anilin ermittelten Werten auf, daß sie im Verhältnis zur Dosis eher zurückbleiben, zum mindesten nicht so weit hervorragen, wie man es bei der Annahme erwarten müßte, daß p-Aminophenol das allein ausschlaggebende aktive Oxydationsprodukt aus Anilin sei. Einige Beispiele aus Schwedtkes Arbeit seien hier wiederholt (Tabelle 4).

Tabelle 4. Methämoglobin durch Anilin nach Schwedtke.

Versuchs-Nr. von Schwedtke, S. 128	Dosis mg je kg	Std. nach der Vergiftung	Millival je kg
17	4	$3^1/_2$	0,08
18	4	$3^1/_2$	0,07
11	6	3	0,15
12	6	$3^1/_2$	0,19
13	6	$3^1/_2$	0,25
8	10	4	0,21
9	10	4	0,24

Diese Betrachtungen wurden zum Anlaß, in gleicher Weise das Phenylhydroxylamin zu untersuchen.

IV. Phenylhydroxylamin.

Phenylhydroxylamin ist wohl ohne Zweifel das erste Oxydationsprodukt des Anilins und ebenfalls ein guter Methämoglobinbildner, wie lange bekannt ist. Ph. Ellinger[4] brachte Argumente für die Annahme bei,

[4] Z. physiol. Chem. **111**, 86 (1920).

daß es der einzige, jedenfalls wichtigste unmittelbare Träger der Reaktion sei, die zum Methämoglobin führt, was Lipschitz [5] indirekt unterstützte. Schwedtke [1] lehnte im Anschluß an Heubner diese Annahme deshalb ab, weil er auf Grund der Befunde von Heubner und Rolf Meier [6] voraus-

Tabelle 5. Phenylhydroxylamin.

Versuchs-Nr.	Anfangsgehalt an Hb %	Dosis mg/kg	96%iger Alkohol ccm je kg	Methämoglobingehalt g/kg						
				1/3	1/2	1	2	2 1/2	3 1/2	4
				Stunden nach der Injektion						
12	10,6	0,5	—		2,6	2,1				
13	13,1	0,5	—		2,7	2,3	1,3			
14	13,7	1,0	—		4,3	5,5				
15	12,0	1,0	—		4,2	4,9				
16	12,5	1,5	—		5,4	5,5				
17	10,7	1,5	—		4,8	4,9				
18	14,1	2,0	—		7,7	7,2	6,1			4,5
19	14,6	10,0	—	10,0 (†)						
20	11,4	0,5	0,3		3,2	3,9	3,9		3,0	
21	11,0	0,5	0,3		3,3	3,2	2,3			
22	14,0	0,5	0,6		2,7	2,7	1,8			
23	15,0	0,5	0,6		3,8	3,9		2,5		

setzte, die Umsetzung des Phenylhydroxylamins führe im Organismus ebenso wie im Reagensglas zu dem irreversiblen Endprodukt Azoxybenzol, könne also quantitativ für Methämoglobin-Phenylhydroxylamin bestenfalls dem Val-Mol-Verhältnis 1 entsprechen; da er mit Anilin bis zu einem viel höheren Val-Mol-Verhältnis kam, mußte er eine Kreisreaktion postulieren, die ihm nur bei dem schon lange von Heubner verteidigten System Aminophenol—Chinonimin möglich schien. Meine Beobachtungen über p-Aminophenol mußten aber Zweifel an der Richtigkeit dieser Argumentation erwecken.

Ich verabreichte an Katzen frisch hergestellte 1%ige wässerige Lösungen von Phenylhydroxylamin subcutan. Sofort zeigte sich die viel stärkere und auch raschere Wirkung der Substanz gegenüber dem Aminophenol: mit der Dosis von 10 mg je kg ging eine Katze binnen einer halben Stunde zugrunde, nachdem ihr Blutfarbstoff nahezu quantitativ in Methämoglobin verwandelt war. Erst mit Dosen von 1,5—1 mg je kg kam ich auf eine Größenordnung der Methämoglobinbildung, wie sie nach 15 mg Para-Aminophenol eintritt. Auch dann ist bereits nach 30 Minuten der Höhepunkt der Methämoglobinbildung ganz oder nahezu erreicht.

Die gebildete Methämoglobinmenge wächst mit der Dosis ziemlich linear an, wenn auch die Dosen 1,0 und 1,5 mg je kg keinen Unterschied erkennen ließen; jedenfalls ist die Spannweite für eine erkennbare Vergiftung ohne Todeserfolg nicht sehr groß und dürfte sich auf die Dezimale von 0,3—3 mg je kg erstrecken. Dieser Bereich liegt nach roher Schätzung etwa 20mal niedriger als der — viel ausgedehntere — für Anilin.

[5] Z. physiol. Chem. **109**, 189 (1920). — [6] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **100**, 139ff. (1923).

Die Wirkung des Alkohols wurde nur bei der Dosis 0.5 mg geprüft; sie tritt unverkennbar hervor, insofern das Mittel der Methämoglobinbildung für die 4 Alkoholversuche bei 3,7 g je kg liegt, für die 2 Versuche ohne Alkohol bei 2,7. Abb. 3 gibt überdies den zeitlichen Verlauf dieser Versuche wieder, wodurch die grundsätzliche Analogie zu den gleichsinnigen Versuchen mit Aminophenol (auf Abb. 2) klar zutage tritt; auch eine Verzögerung der Rückbildung des gebildeten Methämoglobins darf man mit einer gewissen Vorsicht aus dieser Kurve erschließen.

Am bemerkenswertesten ist jedoch das Val-Mol-Verhältnis zwischen Methämoglobin und Phenylhydroxylamin, das sich in diesen Versuchen enthüllt. Es bewegt sich ohne Alkohol zwischen 22 und 35 und steigt bei Alkoholgegenwart bis 50. Daraus geht eindeutig hervor, daß auch bei Zufuhr von fertigem Phenylhydroxylamin im Organismus eine Kreisreaktion vor sich geht.

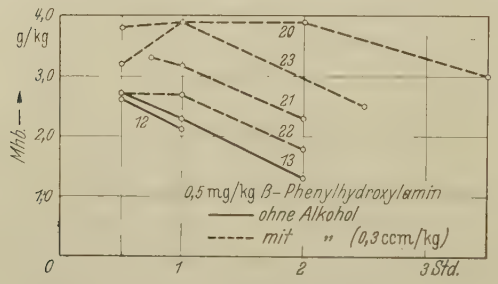


Abb. 3

Durch diese Feststellung ist der Argumentation von Heubner und Schwedtke in der bei Schwedtke geäußerten Form der Boden entzogen und die Ansicht von Ellinger und Lipschitz erneut in den Vordergrund gerückt, nach der das Phenylhydroxylamin grundsätzlich und wesentlich an der Bildung des Methämoglobins beteiligt ist. Übrigens läßt sich auch aus einem Versuch von Ellinger[7] berechnen, daß Azetylphenylhydroxylamin ein Vielfaches seiner Molzahl an der Katze in Methämoglobin verwandelt hatte.

V. Para-Dinitrobenzol.

In allen Fällen wurde p-Dinitrobenzol in Form einer 1%igen Lösung in Olivenöl angewendet. Der zeitliche Ablauf der Methämoglobinbildung wurde mit einer subcutanen Dosis von 1 mg je kg untersucht. Wie Abb. 4 zeigt, wurde der Höhepunkt in der zweiten Stunde erreicht, während dann

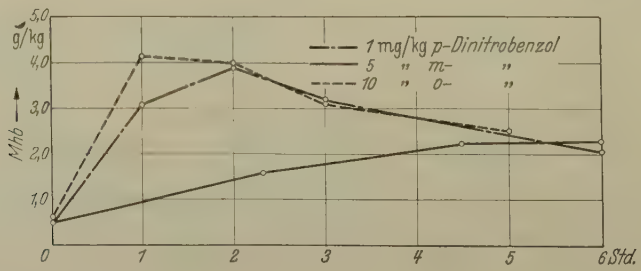


Abb. 4.

[7] A. a. O., Versuch XXXX, S. 122.

eine langsame Verminderung eintrat. In den weiteren Versuchen wurden die Blutproben gewöhnlich nur nach der zweiten und dritten Stunde entnommen, um möglichst die Maximalwerte der Methämoglobinbildung bei den verschiedenen Dosen zu erhalten. Eine Übersicht der gewonnenen Zahlen gibt Tabelle 6.

Auf Abb. 5 sind die ermittelten Maximalwerte in Beziehung zu den Dosen dargestellt. Es zeigt sich deutlich, daß zwischen 0,2 und 0,5 mg eine Vermehrung des Methämoglobins nicht eintritt, ja, daß offenbar auch 1 mg dies nicht bewirkt. Demgegenüber ist ein Absinken der gebildeten Methämoglobinmenge von etwa 4 g auf die Hälfte festzustellen, wenn die Dosis von 0,25 mg/kg auf 0,125 mg/kg abfällt; in diesem Bereich verläuft also die „Dosis-Wirkungskurve" linear, während dann wie bei dem Anilin eine Stufe auftritt, die auf das Bestehen eines Redoxsystems hinweisen dürfte.

In gleicher Weise wurde die Wirkung von Äthylalkohol auf die Methämoglobinbildung durch p-Dinitrobenzol untersucht. Gemeinsam mit dem p-Dinitrobenzol wurden 0,3 ccm 96%iger Alkohol in 10%iger wässeriger Lösung zugeführt. Die Ergebnisse sind auf Abb. 5 durch Kreuze dargestellt.

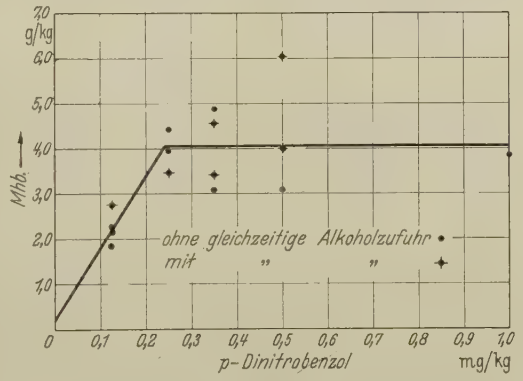


Abb. 5. „Dosis-Wirkungskurve" für p-Aminophenol. Abszisse: Dosis; Ordinate: Maxima der ermittelten Methämoglobinmengen.

Tabelle 6. Ergebnisse mit Para-Dinitrobenzol.

Versuchs-Nr.	Anfangsgehalt an Hb %	Dosis mg/kg	96%iger Alkohol ccm je kg	Methämoglobingehalt g/kg Stunden nach der Injektion						
				1	1½	2	2½	3	3½	6
24	14,6	0,12	0	1,9		2,2		2,0		
25	13,9	0,12	0	—		2,3		1,7		
26	11,8	0,25	0	3,1		4,0		—		
27	11,9	0,25	0	3,7		4,5		4,1		
28	14,6	0,35	0	3,9		4,9		—		
29	11,2	0,35	0	2,8		3,1		—		
30	10,4	0,5	0	3,1		2,6				
31	12,5	1,0	0		3,9		3,2		3,2	2,6
32	16,9	0,12	0,3			2,8		2,3		
33	13,4	0,12	0,3			1,9		1,7		
34	12,8	0,25	0,3			3,4		3,4		
35	16,3	0,35	0,3	5,1		(4,1?)		5,5		
36	8,4	0,35	0,3	3,4		2,4				
37	16,4	0,5	0,3	5,6		6,1		4,8		
38	11,5	0,5	0,3			4,0				

Von 7 Versuchen haben 6 Ergebnisse geliefert, die sich aufs beste denjenigen einordnen, bei denen kein Alkohol gegeben wurde. Daraus läßt sich wohl folgern, daß der Alkohol keinen Einfluß ausübt. Hier besteht also ein deutlicher Unterschied gegenüber Anilin.

Das molare Verhältnis von Dinitrobenzol zu einem Äquivalent Hämoglobin beträgt fast genau 1 : 100. Betrachtet man die auf Tabelle 6 verzeichneten Zahlen, so findet man bei den geringen Dosen gleichermaßen mit und ohne Alkoholgabe Äquivalentmolverhältnisse Methämoglobin zu Dinitrobenzol, die gegen 200 zu liegen: ein Molekül p-Dinitrobenzol vermochte also im Organismus soviel mehr Äquivalente Methämoglobin zu bilden. In der Arbeit von Heubner und Lo-Sing[1] wurde maximal der Wert 114 und mit Dosen unter 0,25 mg je kg überhaupt keine (gasometrisch meßbare) Wirkung mehr erzielt, wobei allerdings in Betracht zu ziehen ist, daß deren Blutproben erst nach $3^1/_2$—7 Stunden entnommen wurden.

VI. Ortho-Dinitrobenzol.

In Abb. 4 ist der Ablauf der Methämoglobinbildung bei Zufuhr von 10 mg/kg o-Dinitrobenzol dargestellt. Das Maximum liegt in der ersten Stunde, um dann einem allmählichen Absinken Platz zu machen. Tabelle 7 gibt das Verhältnis der gebildeten Methämoglobinmenge zu den Dosen. In dem Gebiete der 10—20 mg/kg ist die gebildete Methämoglobinmenge kaum verändert, während die niedrigeren wie höheren eine Abstufung erkennen lassen. Auch hier scheint also eine Zone zu bestehen, innerhalb deren die gebildete Methämoglobinmenge konstant bleibt.

Das Val-Mol-Verhältnis für die geringsten Dosen beträgt rund 4 (während Heubner und Lo-Sing, wiederum bei etwas höheren Dosen und entsprechend späteren Zeiten, Werte bis zu 3 fanden).

Tabelle 7. Ergebnisse mit Ortho-Dinitrobenzol.

Versuchs-Nr.	Anfangsgehalt an Hb %	Dosis mg/kg	96%iger Alkohol ccm je kg	Methämoglobingehalt g/kg					
				1	2	3	4	5	6
				Stunden nach der Injektion					
39	12,7	5	0		1,9		1,1		0,8
40	14,4	5	0	1,9	1,8				
41	14,1	10	0	4,1	4,0	3,8		3,0	
42	11,8	15	0	4,7	4,8				
43	10,9	20	0	4,4	5,0		5,0		
44	12,3	30	0	4,7	7,5 (†)				
45	13,9	5	0,3	2,5					
46	10,3	5	0,6	2,4	2,2			1,7	
47	11,7	5	0,6	1,7	1,9				

Die Wirkung des Äthylalkohols in Dosen von 0,3 und 0,6 ccm/kg wurde nur für die Dosis von 5 mg/kg o-Dinitrobenzol geprüft (vgl. Tabelle 7). Die erhaltenen Werte lassen den Schluß zu, daß der Alkohol ebenso wie bei

dem p-Dinitrobenzol höchstens einen unbedeutenden Einfluß auf die Methämoglobinbildung ausübt. Im ganzen verhält sich das o-Dinitrobenzol in allen Beziehungen analog dem p-Dinitrobenzol, sofern man es etwa 25mal höher dosiert.

VII. Meta-Dinitrobenzol.

Einen wesentlichen Unterschied in seinem ganzen Verhalten weist gegenüber seinen Isomeren das m-Dinitrobenzol auf. Schon der zeitliche Ablauf der Methämoglobinbildung offenbart das: Bei subcutaner Zufuhr von 5 mg/kg m-Dinitrobenzol in 1%iger Lösung vergrößert sich der Methämoglobingehalt des Blutes nur sehr langsam (vgl. Abb. 4); der Höhepunkt der Veränderung ist frühestens in der sechsten Stunde, oft erst später erreicht und verbleibt dann auf annähernd demselben Niveau 24 bis 48 Stunden lang. Schon aus dieser Tatsache ist zu folgern, daß der Wirkungsmechanismus des m-Dinitrobenzols von dem des p- und o-Dinitrobenzols unterschieden sein muß. Das Verhältnis der Dosen zur Methämoglobinbildung zeigt aufs deutlichste eine stufenweise Erhöhung zwischen 5 und 6,5 mg je kg, wogegen von 6,5—10 mg/kg die Wirkung konstant bleibt. Offenbar ist hier wiederum ein Gleichgewicht von der Art eines Redoxsystems im Spiele.

Tabelle 8. Ergebnisse mit Meta-Dinitrobenzol.

Versuchs-Nr.	Anfangsgehalt an Hb %	Dosis mg/kg	96%iger Alkohol ccm je kg	Methämoglobingehalt g/kg Stunden nach der Injektion								
				1½	2	3	4	4½	6	7	8	23
48	15,2	1	0	0,8		1,0						
49	12,1	5	0			1,7		2,2	2,3			
50	10,4	5	0						2,8			
51	12,7	5	0						2,8			
52	12,7	6,5	0							5,4		
53	12,7	6,5	0						4,8		5,8	
54	12,6	8	0						4,5	4,5		5,4
55	11,5	10	0	2,9		4,6		5,7				
56	10,6	10	0						5,0			
57	14,3	5	0,25						3,2			
58	11,6	5	0,25						3,0			
59	12,0	5	0,50*						6,5			
60	11,5	5	0,60*		2,0		3,2		3,9			
61	11,4	5	0,60*						3,5			

* Zweimal 0,25 (0,3) im Abstand von 4 Stunden.

Gegenüber dem Alkohol verhält sich Meta-Dinitrobenzol deutlich anders als die Ortho- und Paraverbindung; denn hier verstärkt der Alkohol die Methämoglobinbildung wesentlich.

Die Wirkung des Alkohols ist besonders schön zu sehen, wenn man sie durch wiederholte Gaben über längere Zeit festzuhalten versucht, also mit

der langsamen Entwicklung der Umsetzung des Blutfarbstoffs einigermaßen in Einklang bringt (vgl. Versuche 59—61).

Das Val-Mol-Verhältnis Methämoglobin zu Meta-Dinitrobenzol beträgt bei der Dosis von 5 mg je kg ohne Alkohol im Durchschnitt 5,3. mit Alkohol 8,0. Übrigens verdient es Beachtung, daß ein Sprung auf den doppelten Wert Methämoglobin in beiden Versuchsreihen auftritt: ohne Alkohol von 2,6 (im Mittel) bei 5 mg auf 5,6 (im Mittel) bei 6,5 mg; mit Alkohol von 3,4 im Mittel (mit dem Maximum 3,9!) in 4 Versuchen auf 6,5 in einem Versuch (stets bei der Dosis 5 mg); der Alkohol scheint also das System der Grenze zu nähern, wo der „Sprung" in dem Ausmaße der Wirkung erfolgt. Diese höchsten Zahlen für das Äquivalent-Molverhältnis betrugen (ohne Alkohol) 9—10; sie lagen also etwas höher als die für die Ortho-, doch wesentlich niedriger also die für die Paraverbindung, was mit den Ermittlungen von Heubner und Lo-Sing[1] voll übereinstimmt.

Im ganzen weicht das Verhalten des Meta-Dinitrobenzols von dem der Ortho- und Paraverbindungen wesentlich ab; in bezug auf die Empfindlichkeit gegen Alkohol steht es dem Anilin näher, in bezug auf die langsamere Auswirkung des Effektes dem Nitrobenzol.

VIII. Natriumnitrit.

Nachdem sich am Phenylhydroxylamin gezeigt hatte, daß Versuche in vitro recht irreführend sein können, schien es erwünscht, ein weiteres Stickstoffderivat zu untersuchen, von dem aus Reagensglasversuchen geschlossen worden war, daß es mit Blutfarbstoff keine Kettenreaktion eingeht, sich vielmehr streng stöchiometrisch Molekül um Molekül umsetzt. Eine solche Substanz ist das Nitrit.

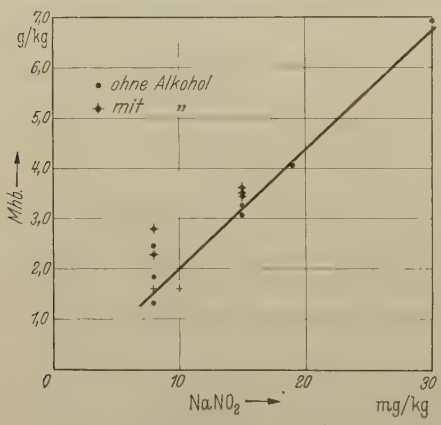


Abb. 6. „Dosis-Wirkungskurve" für Nitrit (vgl. Abb. 5).

Ich suchte daher festzustellen, ob das Natriumnitrit in vivo bei den wesentlich schwerer übersehbaren Verhältnissen des Tierorganismus identisch wirkt wie in vitro. Ferner schien es interessant zu untersuchen, ob der Äthylalkohol die Nitritwirkung beeinflußt.

Das Natriumnitrit wurde in Dosen von 10—30 mg/kg in wässeriger Lösung subcutan injiziert. Die Methämoglobinbildung erreichte in sämtlichen Fällen nach 60 Minuten ihr Maximum und fiel dann ab (Tabelle 9). Trägt man die einzelnen Dosen und die zu ihnen gehörenden Methämoglobinmaxima in einem Koordinatensystem auf, so ist wahrzunehmen, daß

das $NaNO_2$ sich ganz anders benimmt, wie die bisher untersuchten methämoglobinbildenden Substanzen; denn mit der Dose wächst hier streng linear die gebildete Methämoglobinmenge. Nirgends ist auch nur die Andeutung einer sprunghaften Stufe zu erkennen, die Kurve ist eine gerade Linie: Abb. 6. Das Val-Mol-Verhältnis bewegt sich um 1; nirgends ist es geringer als 0,7 und nirgends höher als 1,4. Im Mittel aller Versuche beträgt es 0,94, im Mittel der Alkoholversuche allein 1,0; im Mittel der Versuche ohne Alkohol 0,8. Daraus folgt, daß ein Molekül $NaNO_2$ tatsächlich auch im Tierorganismus nur ein Molekül Methämoglobin bilden kann. Die Reaktion zwischen Hämoglobin und $NaNO_2$ spielt sich also offenbar in vivo wie in vitro nach den Regeln der Stöchiometrie ab.

Eine Wirkung des Äthylalkohols auf die Reaktion zwischen Nitrit und Blutfarbstoff ließ sich nicht nachweisen. Die mit Alkoholzugabe erhaltenen Methämoglobinmaximalwerte sind auf der Abb. 6 als Kreuze dargestellt. Die Maxima der Methämoglobinbildung sind bei Alkohol vielleicht ein wenig höher, aber nicht mehr abweichend als um 0,5 g/kg, was der biologischen Streuung der normalen Werte entspricht.

Tabelle 9. Ergebnisse der Versuche mit Natriumnitrit.

Versuchs-Nr.	Anfangsgehalt an Hb %	Dosis mg/kg	96%iger Alkohol ccm je kg	Methämoglobingehalt					
				½	1	2	3	3½	5½
				Stunden nach der Injektion					
62	9,6	8	0		1,3	1,0			
63	12,8	8	0		1,6	1,1			
64	13,9	8	0		2,1	1,8	1,2		
65	13,9	15	0	2,5	3,2	3,1			
66	12,7	15	0		3,0	2,9			
67	14,0	30	0		6,9	6,9	5,4		3,0
68	12,6	8	0,3		2,3	2,1			
69	15,2	8	0,2		2,7	2,7			
70	12,8	8	0,2		1,6	1,6			
71	10,3	10	0,2		1,6				
72	11,4	15	0,3		3,3	3,2		2,5	
73	13,9	15	0,2		3,5	3,5		2,5	
74	11,4	15	0,2		3,6	3,3			

VIII. Besprechung.

Die geschilderten Versuche sind nach mancher Richtung für unsere Vorstellungen über die Methämoglobinbildung durch Gifte von Interesse. Deutlich schälen sich verschiedene Typen des Vergiftungsmechanismus heraus, die sich nach drei Richtungen gliedern lassen: einmal nach der Zeit, die die Umwandlung des Blutfarbstoffs braucht, zweitens nach ihrer Abhängigkeit von der Dosierung, drittens nach ihrer Beeinflußbarkeit durch Alkohol. Ein einfacher und klarer Fall liegt bei Nitrit vor: es wirkt so rasch, wie man unter Anrechnung der Resorptionszeit erwarten kann; die Umsetzung des Blutfarbstoffs erfolgt im stöchiometrischen Verhältnis zur Dosis

und Alkoholzugabe verändert nichts daran. In der Geschwindigkeit der Wirkung sind Phenylhydroxylamin, p-Aminophenol, p- und o-Dinitrobenzol dem Nitrit etwa gleichzusetzen, wenn auch Phenylhydroxylamin noch einen gewissen Vorsprung zu haben scheint und die Dinitrobenzole etwas nachhinken; jedenfalls liegt bei ihnen allen der Höhepunkt der Umwandlung um die erste bis zweite Stunde herum, um dann allmählich — bei allen etwa im gleichen Tempo — abzunehmen.

Jedoch weisen alle diese Substanzen (vermutlich auch das unzureichend geprüfte Aminophenol) in bezug auf die Abhängigkeit der gebildeten Methämoglobinmenge von der Dosis einen deutlichen Unterschied gegenüber Nitrit auf: stets kann mehr Blutfarbstoff umgewandelt werden, als dem stöchiometrischen Verhältnis (Val-Mol-Verhältnis = „VMV") entspricht. Tabelle 10 gibt noch einmal einen Überblick über die ermittelten Werte.

Tabelle 10.

Substanz	Zahl der Versuche	Dosen mg je kg	Val-Mol-Verhältnis		
			Maximum	Minimum	Mittel
Nitrit	13	8—30	1,4	0,7	0,9
Phenylhydroxylamin	11	0,5 — 2	50	22	34
p-Dinitrobenzol	7	0,12— 0,25	233	136	198
o-Dinitrobenzol	9	5 —30	5	2,5	3,7
m-Dinitrobenzol	14	1 —10	13	4,6	7,1

Alle aufgeführten aromatischen Substanzen werden also in einen Kreisprozeß einbezogen, in dem sie entweder selbst oder bestimmte Umwandlungsprodukte neu gebildet werden, um wiederholt mit Blutfarbstoff in Reaktion zu treten.

Recht bemerkenswert ist es, daß p-Dinitrobenzol noch erheblich giftiger ist als Phenylhydroxylamin. Lipschitz[5] hatte bei seinen Studien über die Umsetzung zu Nitrophenylhydroxylamin anfangs m-Dinitrobenzol benutzt und als das wesentliche angesehen, später jedoch die bessere Reaktionsfähigkeit der anderen Isomeren, besonders der Orthoverbindung, gefunden. Sofern nach der Annahme von Lipschitz die Wirkung der Dinitrobenzole über die Phenylhydroxylamine geht, müßte p-Nitrophenylhydroxylamin im Tierversuch erheblich giftiger, die Isomeren aber weniger giftig sein als Phenylhydroxylamin selbst.

Mit der Erscheinung der wiederholten Reaktion in einem Kreisprozeß scheint bis zu einem gewissen Grade die zweite Eigentümlichkeit zusammenzuhängen, die die aromatischen Verbindungen vom Nitrit unterscheiden: nämlich die völlige oder annähernde Konstanz der umgesetzten Hämoglobinmenge über einen größeren Dosenbereich hin, die „Plateaubildung" auf der Dosis-Wirkungskurve, wie sie Schwedtke[1] in so ausgeprägtem Maße beim Anilin auffand. Diese Eigentümlichkeit zeigt nämlich unter den von mir untersuchten Substanzen am stärksten das p-Dinitro-

benzol; ebenso ist sie noch erkennbar bei Phenylhydroxylamin, während sie bei Ortho-Dinitrobenzol höchstens angedeutet ist. Allerdings darf nicht übersehen werden, daß das VMV bei dem (langsamer zur Wirkung kommenden!) Anilin höher ist als bei Ortho-Dinitrobenzol.

Der Einfluß des Alkohols auf die umgesetzte Hämoglobinmenge ist deutlich bei p-Aminophenol, Phenylhydroxylamin, nicht sicher nachweisbar bei p- und o-Dinitrobenzol. Eine Erklärung für diesen Unterschied weiß ich nicht zu geben.

Sehr merkwürdig berührt nun die Sonderstellung des Meta-Dinitrobenzols: Bei ihm erhöht die Alkoholzufuhr ohne jeden Zweifel den Umsatz des Blutfarbstoffs. Dies ist von sozialhygienischem Interesse; denn bei der Nitrierung entsteht bekanntlich die Metaverbindung viel leichter und in größeren Mengen als die Isomeren, und die z. B. bei Granatenfüllern beobachtete Erhöhung der Gefahr durch Alkohol dürfte sich daher ebenfalls auf das Metaprodukt beziehen. (Für die Vergiftung überhaupt brauchen natürlich die beigemischten kleineren Mengen des rascher und intensiver wirkenden Para-Dinitrobenzols keineswegs gleichgültig zu sein.)

Meta-Dinitrobenzol verhält sich aber noch in anderer Hinsicht durchaus verschieden von seinen Isomeren: die Wirkung entwickelt sich zeitlich in einem viel langsameren Tempo, ohne daß dabei etwa das Ausmaß bei gleichen Dosen unter dasjenige für die Orthoverbindung absank (vgl. Tabellen 7 und 8). Es schließt sich im Wirkungstempo dem Nitrobenzol an, übertrifft dieses jedoch erheblich an Wirkungsintensität *.

Ferner zeigt Meta-Dinitrobenzol wie die Paraverbindung und im Gegensatz zur Orthoverbindung einen ausgesprochenen „Sprung" im VMV bei einem schmalen Dosenabstand und gute Konstanz über einen gewissen Bereich hinweg. Dadurch wird der oben (S. 564) erwähnte Parallelismus dieser Erscheinung zu der Höhe des VMV auf eine sehr enge Reichweite eingeengt; denn diese Höhe ist bei m-Dinitrobenzol relativ gering (vgl. Tabelle 10). Die Verbindung weist ein eigentümliches Gemisch in ihrem Verhalten auf, insofern sie mit den sonst studierten Substanzen partiell übereinstimmt, partiell entschieden abweicht.

Zusammenfassung.

1. Para-Aminophenol, Phenolhydroxylamin, die drei isomeren Dinitrobenzole und Natriumnitrit wurden an Katzen daraufhin untersucht, wann das Maximum der Methämoglobinbildung eintritt, in welchem Verhältnis diese Bildung zu den Dosen steht und ob sie durch Alkohol zu steigern ist.

2. Nitrit wirkt schnell und setzt den Blutfarbstoff in vivo nach stöchiometrischen Beziehungen um.

* Vgl. die Zahlen der Tabelle 8 mit denen von Schwedtke u. Lo-Sing[1], S. 139.

3. Von den aromatischen Verbindungen wirkt Phenylhydroxylamin am schnellsten, doch auch Aminophenol, sowie Para- und Ortho-Dinitrobenzol nicht wesentlich langsamer (Maximum nach 1—2 Stunden). Ganz abseits steht Meta-Dinitrobenzol mit einer ganz allmählichen, aber tagelang anhaltenden Wirkung.

4. Alle geprüften aromatischen Verbindungen setzen mehr Blutfarbstoff um, als der einfachen molaren Umsetzung entspricht, am stärksten Para-Dinitrobenzol, dann Phenylhydroxylamin, dann Meta- und am wenigsten Ortho-Dinitrobenzol.

5. Wie Anilin zeigen „Sprünge“ und „Plateaus“ in der Dosiswirkungskurve Para- und Meta-Dinitrobenzol, Phenylhydroxylamin, andeutungsweise auch Ortho-Dinitrobenzol (vielleicht auch p-Aminophenol).

6. Alkohol hat keinen Einfluß auf die Wirkung des Nitrits sowie des Para- und Ortho-Dinitrobenzols. Er erhöht die Ausbeute an Methämoglobin bei p-Aminophenol, Phenylhydroxylamin und Meta-Dinitrobenzol.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Studien über Methämoglobinbildung.

XVI. Mitteilung: „Normales" Methämoglobin bei Katzen.

Von

Béla von Issekutz jun., Budapest.

(Eingegangen am 7. September 1939.)

Die von uns ausgearbeitete Methode zur Bestimmung des Methämoglobins mit dem empfindlichen Photometer von Havemann[1] erlaubte es mir, Beobachtungen über eine bisher ungeklärte Frage zu sammeln: Aus dem Verhalten des Blutfarbstoffs extra corpus ist altbekannt, daß dem Gleichgewicht mit Luftsauerstoff nicht das Oxyhämoglobin, sondern das Methämoglobin entspricht, daß sich also unter diesen Bedingungen der überwiegende Anteil oder der gesamte Blutfarbstoff in Methämoglobin verwandelt. Daraus ergibt sich die Frage, ob nicht auch physiologisch gewisse Mengen Methämoglobin auftreten, die jedoch ebenso wie das toxikologisch gebildete dauernd der Reduktionskraft der Gewebe unterworfen sind und deshalb niemals höhere Beträge erreichen.

Bei meinen photometrischen Messungen am Blute von Katzen fiel es mir auf, daß auch das frische Blut unbehandelter Tiere bei Zusatz von Cyanid eine geringfügige Farbänderung erlitt (die natürlich nicht mit dem Auge erkennbar war). Glaubte ich anfangs auch an methodische Fehler, so mußte ich mich doch bei zunehmender Übung und Erfahrung davon überzeugen, daß diese Reaktion des frischen Blutes mit Cyanid reell war und daß auch bisher keine andere Ursache für diese Reaktion ausfindig gemacht werden konnte als vorgebildetes Methämoglobin. Methodische Fragen finden sich bereits in der erwähnten Arbeit behandelt[2].

Hier gebe ich auf der Tabelle eine Aufstellung der von mir nach ausreichender Beherrschung der Methode gefundenen Zahlen am unbehandelten Blute; die Änderung der Lichtextinktion im Roten bei Cyanidzusatz ist als Methämoglobin in absoluten und relativen Prozenten berechnet. Die Zahlen ergeben einen unerwartet hohen Anteil an Methämoglobin im frischen Katzenblut, nämlich im Mittel genau 1 g auf 100 ccm oder 8,6% des vorhandenen Gesamthämoglobins; die Streuung geht bis etwa zur Hälfte und zum Doppelten dieser Werte. Eine sichere Beziehung zu der Vorgeschichte der Tiere läßt sich aus den erhobenen Befunden nicht ableiten: sowohl frisch eingebrachte, wie länger im Stall aufbewahrte, selbst gebrauchte Tiere wiesen im Mittel ähnliche Werte auf.

[1] Havemann, Jungu. v. Issekutz: Biochem. Z. **301**, 116 (1939). — [2] A. a. O., S. 122f.

Bei der Beurteilung dieses Befundes dürfte es wichtig sein, zu beachten, daß Katzen unter den uns bekannten Tierarten diejenigen sind, die bei weitem am intensivsten auf methämoglobinbildende Gifte reagieren.

Tabelle. Frisches Katzenblut.

Versuchs-Nr.	Tier-Nr. nach der vorangehenden Arbeit	Versuchs-Datum 1939	Tiergewicht, kg	Gesamthämoglobin, g in 100 ccm Blut	Methämoglobin, g in 100 ccm Blut	Methämoglobin, % vom Gesamthämoglobin
1	3	6. II.	2,2	8,9	0,85	9,5
2	5	10. II.	1,7	8,2	0,47	5,7
3	6	13. II.	1,9	10,6	0,47	4,4
4	7	14. II.	1,6	13,0	1,03	7,9
5	8	15. II.	2,4	15,2	1,68	11,0
6	31	22. II.	2,4	12,5	0,75	6,0
7	30	23. II.	1,7	10,4	1,76	16,9
8a	67	2. III.	3,6	14,0	0,87	6,2
8b*	72	17. III.		11,4	0,87	7,6
9	68	16. III.	2,3	12,6	0,98	7,8
10**	74	23. III.	2,7	11,4	1,08	9,5
11	42	17. IV.	2,8	12,7	1,02	8,0
12	57	18. IV.	2,4	13,4	1,04	7,8
13	60	21. IV.	3,3	11,5	0,90	7,8
14	39	24. IV.	2,3	12,7	0,72	5,7
15	41	25. IV.	2,6	12,8	0,90	7,0
16†	42	27. IV.	2,7	11,8	1,54	13,0
17††	47	14. V.	2,7	11,7	1,04	8,9
18†	17	16. V.	3,4	10,7	1,16	10,8
19	15	16. V.	2,9	12,0	0,96	8,0
				Mittel:	1,01	8,6

* Das Tier 8 war 15 Tage zuvor mit 30 mg je kg Natriumnitrit vergiftet gewesen (8a).
** Das Tier 10 war 8 Tage zuvor mit 15 mg je kg Natriumnitrit vergiftet gewesen.
† Die Tiere 16 und 18 waren bereits vorher zu anderen Versuchen gebraucht worden.
†† Das Tier 17 war 17 Tage zuvor mit 5 mg je kg o-Dinitrobenzol vergiftet gewesen.

Zusammenfassung.

An einer größeren Zahl von Katzen wurde im frischen Blut eine Reaktion mit Cyanid gefunden, die auf die Gegenwart von Methämoglobin schließen ließ. Die Menge dieses Derivates betrug 4—17, im Mittel 8,6% des gesamten Blutfarbstoffs.

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität.

Studien über Methämoglobinbildung.

XVII. Mitteilung.

Von

Béla von Issekutz jun., Budapest.

(Eingegangen am 7. September 1939.)

Die in der XV. Mitteilung geschilderten Versuche über die Wirkung verschiedener Methämoglobinbildner an Katzen erlauben es, noch zu einer Frage Stellung zu nehmen, über die bisher volle Klarheit nicht vorzuliegen scheint, der Frage nämlich, ob die Umwandlung in Methämoglobin an sich Anlaß zu vermehrtem Abbau des Blutfarbstoffs gibt. Nach den Versuchen von Möbus[1] wird nach Ersatz eines Teiles der normalen Blutkörperchen durch methämoglobinhaltige Blutkörperchen im Laufe von etwa 9 Stunden die ursprüngliche Sauerstoffkapazität des Blutes erreicht, was dahin gedeutet werden könnte, daß das gesamte Methämoglobin ohne jeden Verlust durch Abbau in Oxyhämoglobin rückverwandelt wird; doch ist natürlich nicht sicher, daß in solchen Versuchen das Volumen des Blutes konstant bleibt. Jung[2] bestimmte in zwei Versuchen gleicher Art die Menge des leicht abspaltbaren Eisens, in einem dieser Versuche auch das Gesamteisen im Blute; er fand stets die gleichen Werte, was wiederum sehr dafür spricht, daß das Methämoglobin nicht in weitere Abbauprodukte verwandelt oder aus dem Blut ausgeschieden wird.

In meinen Versuchen habe ich fast stets entweder vor oder im Anfang der Vergiftung auch das Gesamthämoglobin bestimmt, und diese Bestimmung im Laufe der Vergiftung mehrmals wiederholt. Die Bestimmung erfolgte in dem Havemannschen Photometer[3] in Form des reduzierten Hämoglobins (d. h. nach Zusatz von festem Natriumhydrosulfit) unter Verwendung einer besonderen Eichkurve. Wie bereits in der XV. Mitteilung erwähnt wurde[4], zeigte sich dabei doch gelegentlich ein Absinken des Hämoglobinwertes, der auf eine Verdünnung des Blutes bezogen wurde. A priori könnte man natürlich auch an eine reelle Abnahme des Gesamthämoglobins infolge beschleunigten Abbaues des in Methämoglobin verwandelten Anteils denken. Doch glaube ich diese Annahme bestimmt ausschließen zu können: denn die Abnahme der Hämoglobinwerte war keineswegs regelmäßig, ja nicht einmal in der Mehrzahl der Fälle festzustellen und stand in keinerlei Beziehung zu der Menge des in Methämo-

[1] Heubner u. Möbus: Verh. d. pharmakol. Ges. **223** (1938). — [2] Jung, F:. Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 464, 470 (1939). — [3] Vgl. Biochem. Z. **301**, 105 (1939). — [4] Vgl. S. 553.

Tabelle 1 (ohne Alkohol).

Versuchs-Nr.	Gewicht kg	Maximum d. Mhb.-Bildung nach Stunden	Maximum d. Mhb.-Bildung g je 100 ccm Blut	Maximum d. Mhb.-Bildung % d. Gesamtblutfarbstoffs	Gesamtblutfarbstoff vor der Vergiftung	Gesamtblutfarbstoff Stunden nach der Vergiftung: ½	1	1½	2	2½	3	3½	4	4½	5	6	7	8	23
39	2,4	2	2,8	22	12,7	—	—	—	12,7	—	—	—	13,0	—	—	12,4	—	—	—
64	2,5	1	3,0	22	—	—	13,9	—	14,0	—	12,7	—	—	—	—	—	—	—	—
49	2,6	6	3,3	27	—	—	—	—	12,1	—	12,6	—	—	12,4	—	12,4	—	—	—
51	2,8	6	4,0	30	12,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	13,5	—	—	—
25	3,2	2	3,2	33	—	—	—	—	13,9	—	13,9	—	—	—	—	—	—	—	—
2	2,1	1	5,5	41	13,5	—	13,3	—	11,9	—	—	—	—	—	10,4	—	—	—	—
41	2,6	1	5,9	42	12,8	—	14,1	—	14,6	—	—	—	—	—	15,0	—	—	—	—
31	2,4	1½	5,6	44	12,5	—	—	12,7	—	12,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	2,7	1	5,8	48	11,9	—	12,2	—	—	—	12,3	12,7	—	—	12,3	—	—	—	—
27	3,5	2	6,4	51	—	—	11,9	—	12,5	—	11,7	—	—	—	—	6,5	—	—	—
3	2,2	1	4,5	54	8,7	—	8,3	—	8,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1	1,7	1	6,1	58	10,7	—	10,5	—	10,5	—	—	—	—	10,2	—	10,0	—	—	—
53	2,8	8	8,3	60	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12,7	—	13,9	—
54	2,3	23	7,6	62	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	12,6	11,9	—	12,2
43	1,9	2	7,2	64	—	—	10,9	—	11,3	—	—	—	11,1	—	—	—	—	—	—
67	3,6	1	9,8	70	14,0	—	14,0	—	15,0	—	15,1	—	—	11,2	—	—	—	—	—
55	3,6	4½	8,1	72	—	—	—	11,5	—	—	11,7	—	—	—	—	—	—	—	—
18	3,0	½	11,0	78	—	14,1	14,1	—	14,7	—	—	—	15,2	—	—	—	—	—	—

globin verwandelten Blutfarbstoffs. In einer Anzahl von Fällen stieg der Wert für das Gesamthämoglobin sogar etwas an.

In den Tabellen 1 und 2 gebe ich eine Zusammenstellung meiner Hämoglobinbestimmungen, soweit sie sich über die zweite Stunde nach der Vergiftung erstreckt haben. Dabei sind die Versuche nach dem Prozentsatz von Methämoglobin im Gesamtblutfarbstoff geordnet, wie er maximal festgestellt wurde. Außerdem sind sie in zwei Gruppen geteilt, je nachdem ob mit dem Gift zugleich Alkohol gegeben war oder nicht. Die Versuchsnummern sind die gleichen wie in der XV. Mitteilung.

Obwohl die in Tabelle 1 und 2 wiedergegebenen Zahlen nicht mit der Absicht gewonnen wurden, die Frage eines etwaigen Abbaues des Methämoglobins zu studieren, und obwohl sie nur unter der Voraussetzung einer konstanten Blutmenge ausschlaggebend sein können, liefern sie doch ein eindrucksvolles Ge-

samtbild: es spricht wiederum aufs deutlichste gegen die Annahme, daß Methämoglobin irreversibel zu niederen Abbaustufen umgewandelt werde, besonders wenn man beachtet, daß bei allen rasch wirkenden Giften ebenso wie ohne Gift bei weitem die Hauptmenge des Methämoglobins im Organismus der Katze im Laufe von etwa 8 Stunden verschwindet. Der Gesamtblutfarbstoff nimmt während dieser Periode des Verschwindens im Durchschnitt nicht meßbar ab; vielmehr hat es sich gerade in einigen Versuchen mit sehr erheblicher Methämoglobinbildung ergeben, daß die Gesamtkonzentration an Blutfarbstoff eher anstieg als abfiel (Versuch Nr. 67, 18 in Tabelle 1; Nr. 60, 37, 6 und 7 in Tabelle 2).

Zusammenfassung.

Man hat also anzunehmen, daß Methämoglobin grundsätzlich nur in Oxyhämoglobin zurückverwandelt, jedoch nicht in irgendwie beachtlichem Ausmaß zu Derivaten kleinerer Molekülgröße abgebaut wird.

Tabelle 2 (mit Alkohol).

Versuchs-Nr.	Gewicht kg	Maximum der Mhb.-Bildung nach Stunden	Maximum der Mhb.-Bildung g je 100 ccm Blut	Maximum der Mhb.-Bildung % des Gesamtblutfarbstoffs	Gesamtblutfarbstoff vor der Vergiftung	Gesamtblutfarbstoff Stunden nach der Vergiftung ½	1	2	2½	3	3½	4	6
32	2,4	2	3,3	20	—	—	—	16,9	—	17,5	—	—	—
33	2,7	2	2,7	20	—	—	—	13,4	—	13,3	—	—	—
57	2,4	6	4,6	33	13,5	—	—	—	—	—	—	—	14,0
73	3,7	1	5,0	36	—	—	13,9	14,2	—	—	14,2	—	—
23	3,3	1	5,6	37	—	15,0	15,0	—	15,9	—	—	—	—
34	2,3	2	4,9	38	—	—	—	12,8	—	13,6	—	—	—
74	2,7	1	5,1	41	11,4	—	12,3	11,6	—	—	11,6	—	—
60	3,3	6	5,6	43	11,5	—	—	13,0	—	—	—	13,2	13,0
35	2,1	3	7,9	49	—	—	16,3	15,0	—	16,0	—	—	—
37	1,6	2	8,6	52	—	—	16,4	16,5	—	16,8	—	—	—
5	1,7	1	4,6	58	8,2	—	8,0	8,0	—	—	—	7,9	—
6	1,9	1	6,5	62	10,6	—	10,5	10,5	—	—	—	12,4	12,3
7	2,7	1	8,4	63	13,0	—	13,3	13,7	—	—	—	14,7	—
8	2,4	1	9,2	65	15,2	—	14,1	14,0	—	—	—	15,2	13,8

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Über Hemmungseffekte oxydierten Adrenalins.

Von

Ewald Sanders.

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. August 1939.)

Lissak[1] berichtet, daß nach mehrtägigem Durchleiten von Luftsauerstoff durch Adrenalinlösungen ein Oxydationsprodukt entsteht, welches auf

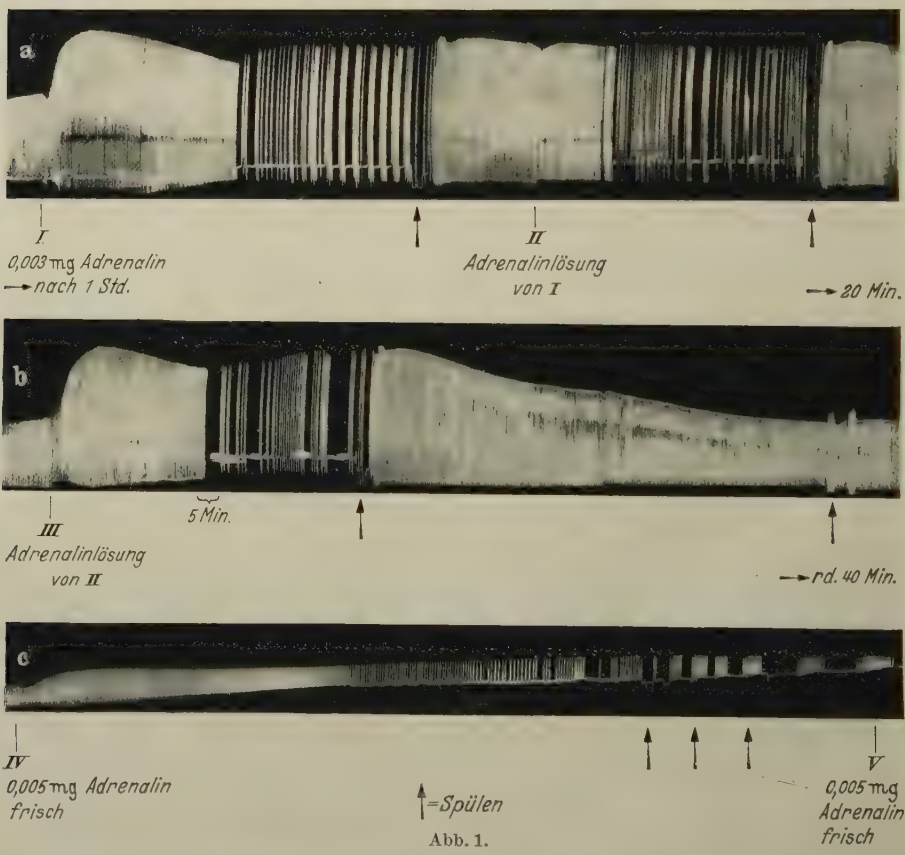


Abb. 1.

das isolierte Froschherz einen hemmenden Effekt ausübt. Er erwähnt dabei ähnliche Ergebnisse von Bacq[2] und Heirman[3], die mittels Tyro-

[1] Lissak: Science **87**, Nr. 2260 (1938). — [2] Bacq: C. r. Soc. Biol. **127**, 341 (1938). — [3] Heirman: Ebenda **126**, 1264 (1937).

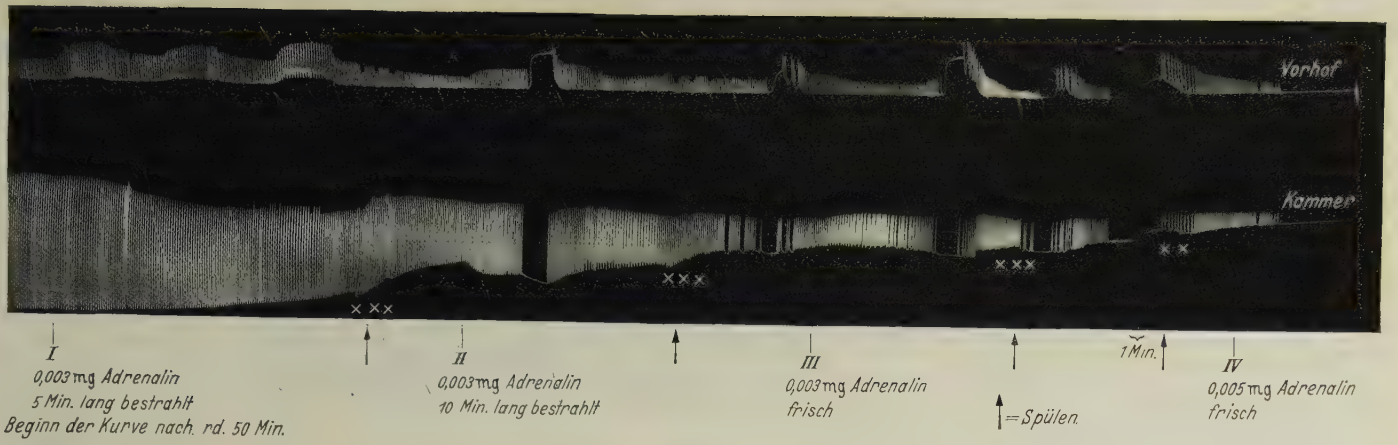

Vorhof
Kammer
I
0,003 mg Adrenalin
5 Min. lang bestrahlt
Beginn der Kurve nach rd. 50 Min.
II
0,003 mg Adrenalin
10 Min. lang bestrahlt
III
0,003 mg Adrenalin
frisch
= Spülen
1 Min.
IV
0,005 mg Adrenalin
frisch

Abb. 2.

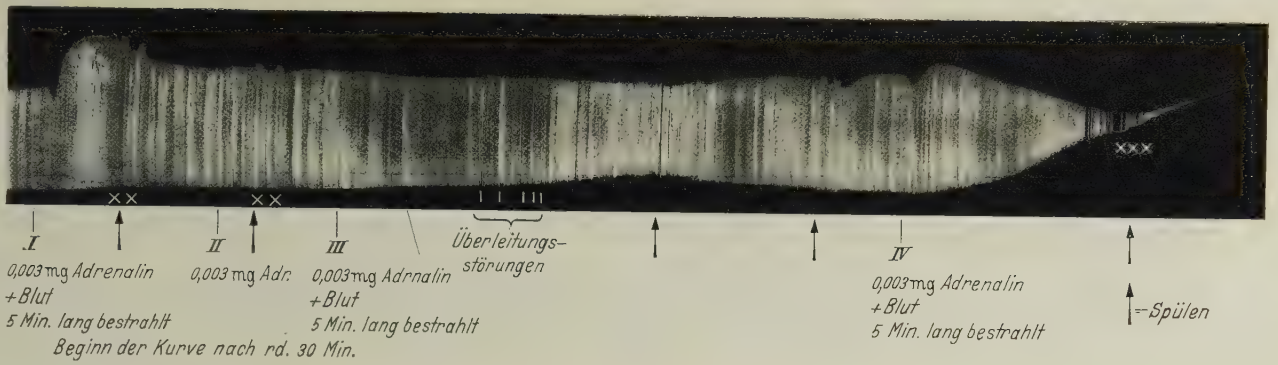

I
0,003 mg Adrenalin
+ Blut
5 Min. lang bestrahlt
II
0,003 mg Adr.
III
0,003 mg Adrnalin
+ Blut
5 Min. lang bestrahlt
Beginn der Kurve nach rd. 30 Min.
Überleitungs-
störungen
IV
0,003 mg Adrenalin
+ Blut
5 Min. lang bestrahlt
= Spülen

Abb. 3.

sinase oder Catecholoxydase ein Oxydationsprodukt des Adrenalins, das sogenannte Adrenoxin, erhielten, welches ebenfalls auf das Froschherz hemmend wirkt und den Blutdruck bei Katzen und Kaninchen senkt. Dieses Oxydationsprodukt soll nach Bacq auch durch den Extrakt aus nichtschwangerem Katzenuterus infolge seines Gehalts an Catecholoxydase zu erhalten sein.

Diese letztere Angabe Bacqs fand Lissak jedoch nicht bestätigt, vielmehr sah er eher eine Oxydationshemmung. Er stützt seinen Befund durch die bekannte Tatsache, daß Gewebsextrakte im allgemeinen die Oxydation des Adrenalins hemmen[4–9].

Hier seien nur einige Versuchsergebnisse mitgeteilt, welche die interessante Beobachtung zu bestätigen

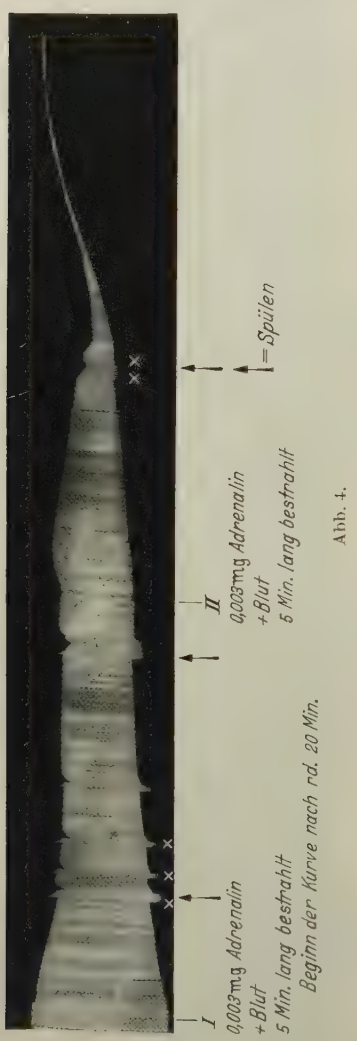


Abb. 4.

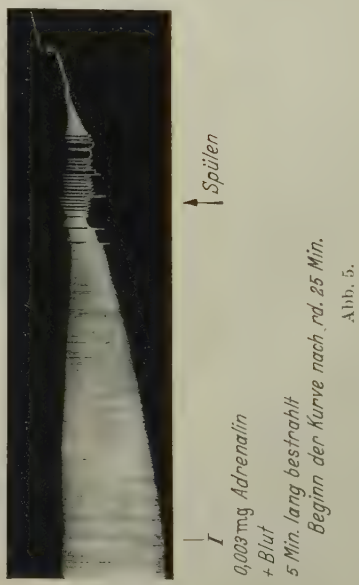


Abb. 5.

scheinen, daß oxydiertes Adrenalin nicht immer unwirksam wird, sondern auch eine Wirksamkeit umgekehrter Richtung erlangen kann.

[4] Abderhalden u. Gellhorn: Pflügers Arch. **199**, 437 (1932). — [5] Konschegg: Z. exper. Med. **81** (1932). — [6] Yamamoto: Hoppe-Seylers Z. **243** (1936). — [7] Smith, R. G., Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 4, 5 (1937). — [8] Sanders: Ebenda **188**, 6 (1938). — [9] Blaschko, Richter u. Schlossmann: J. Physiol. (Brit.) **90**, 1 (1937).

Läßt man nämlich das isolierte Froschherz längere Zeit (etwa $^1/_2$ Std.) unter der Einwirkung von Adrenalin schlagen, so folgt nach dem schnell vorübergehenden positiven Effekt manchmal eine allmählich sich zeigende hemmende Wirkung, indem die Kontraktionshöhe abnimmt, zuweilen auch Rhythmusstörungen auftreten. Diese Wirkung tritt deutlicher hervor, wenn die gleiche Adrenalinlösung dem Froschherzen wiederholt zugesetzt wird. Es kommt dann, allerdings nicht regelmäßig, zum systolischen Herzstillstand (Abb. 1).

Dieser Effekt wird deutlicher gemacht, wenn ultraviolett bestrahltes Adrenalin benutzt wird; der positive Anfangseffekt bleibt jetzt aus, und der Herzstillstand erfolgt dabei nach kürzerer Zeit (siehe Abb. 2).

Aber auch diese Wirkung ist keineswegs immer reproduzierbar; sie scheint von der Dauer der Bestrahlung, vom p_H, sowie von anderen Faktoren, doch eben wahrscheinlich im wesentlichen von der erzielten Oxydationsstufe abhängig zu sein.

Um konstantere Wirkungen des oxydierten Adrenalins zu erzielen, wurde versucht, die Oxydation mittels Ultravioletlicht durch bestimmte Zusätze zu verstärken, zumal sie in Pufferlösungen erschwert vor sich geht (nach Blaschko, Richter, Schlossmann[9]). (Es wurde in bicarbonatfreier Tyrode bestrahlt.) Da Blut die Oxydation beschleunigen soll (Bain, Gumot, Suffolk[10]), wurden den Adrenalinlösungen vor der Bestrahlung geringe Spuren von Froschblut zugesetzt. Der hemmende Effekt des oxydierten Adrenalins kam dann auch tatsächlich deutlicher zum Ausdruck; der systolische Stillstand des Herzens erfolgte in noch kürzerer Zeit (Abb. 3—5).

Es soll nochmals erwähnt werden, daß die Ergebnisse keineswegs regelmäßig zu erzielen waren. Die Gründe für dieses uneinheitliche Verhalten der einzelnen, getrennt hergestellten Lösungen am Froschherzen konnten nicht geklärt werden, zumal die Versuche vorzeitig abgebrochen werden mußten. Die einzelnen Faktoren, wie Konzentration der Lösung, Bestrahlungsdauer, Zusätze, das p_H, Aufbewahrungszeit usw. scheinen von großer Bedeutung für den Oxydationsprozeß zu sein.

Wir führen diese vorläufigen Ergebnisse an, da sie eine Bestätigung der Befunde von Lissak, Bacq und Heirman darstellen.

---

[10] Bain, Gumot u. Suffolk: J. Physiol. (Brit.) **91**, 233 (1937).

Aus dem Institut für Pharmakologie und experimentelle Therapie der Universität Breslau. (Direktor: Prof. Dr. O. Eichler.)

Cholinphosphorsäureester.

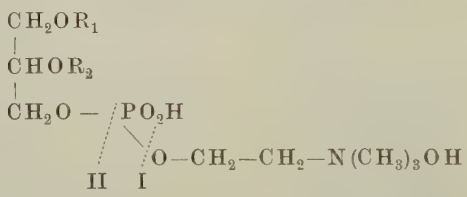
Von

Oskar Eichler.

Mit 11 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. August 1939.)

Spaltet man das im Körper vorkommende Lecithin untenstehender Struktur an der Stelle I, dann erhält man die quaternäre Ammoniumbase Cholin, deren weite Verbreitung im Organismus auch im freien Zustand allgemein bekannt ist. Findet die Spaltung durch Lösung der Bindungen an Stelle II statt. dann erhalten wir einen Cholinphosphorsäureester *. dessen



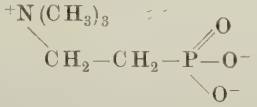
R_1 und R_2 = höhere Fettsäuren.
Strukturformel des Lecithins.

Vorkommen im Organismus zwar nicht erwiesen, aber doch möglich ist. Ein möglicher Vorläufer dieser Verbindung, Aminoäthylphosphorsäure. wurde neulich in Tumorgewebe gefunden [1]. Schon die Möglichkeit des Vorkommens im Lebenden nötigt uns Interesse für diese Substanz ab, weil damit die funktionelle Bedeutung von Lecithin ein neues Schlaglicht erhalten kann. Vor allem ist aber für die Pharmakologie ein Gewinn zu erwarten, weil hier ein Ester mit Cholin vorliegt, dessen Untersuchung die pharmakologischen Erkenntnisse dieser wichtigen Körperklasse vermehren würde. Darüber hinaus unterscheidet er sich aber noch in folgender Weise prinzipiell von anderen Estern: Cholin ist eine basische Substanz und auch die bisher untersuchten Ester haben rein basische Eigenschaften wie z. B. Acetylcholin oder das von Kreitmair untersuchte Carbaminoylcholin (= Doryl). Gespalten werden diese Ester mehr oder weniger rasch durch eine Esterase. Unsere Substanz wird aber durch Phosphatase gespalten.

* Das Ca-Salz wurde uns von den Nordmarkwerken freundlicherweise zur Verfügung gestellt. Wir stellten uns durch sorgfältiges Umfällen mit Na-Oxalat das Na-Salz zu unseren Untersuchungen her. Die Lösungen waren gut abgestimmt und enthielten Oxalat oder Ca nur in Spuren, die ohne Bedeutung waren.

[1] Outhouse, E.: Biochem. J. **30**, 197 (1936); **31**, 1459 (1937).

wie Versuche von Beznak und Chain[2] zeigen. Damit ist die Möglichkeit gegeben, daß Cholin an anderen Stellen der Gewebsstrukturen frei wird. Dann aber — und dieser Punkt scheint mir der wichtigste zu sein — liegt hier nicht eine Base, sondern ein Ampholyt vor, wie auch Lecithin ein Ampholyt ist[3]. Man kann es schreiben:



Wenn wir die sauren Valenzen mit Na absättigen, erhalten wir eine Lösung von $p_H \sim 8-8{,}5$ bei einer Konzentration von 10%. Wir hatten nicht die Möglichkeit, die Wanderungsrichtung zu messen, aber aus der Tatsache der geringen Alkalität wird man wohl schließen dürfen, daß eine Säure, und zwar in der ersten Dissoziationsstufe sogar eine starke Säure, vorliegt. Das bedeutet aber bei der Azidität des Organismus die Notwendigkeit, zu Oberflächen hin zu wandern, die positiv geladen sind, entgegengesetzt der Base Cholin und ihren Estern. Wenn dort gerade Phosphatase wirksam wäre, hätten wir freies Cholin an einer Stelle angereichert, wo man es sonst nicht erhält, wenn es nicht als Base oder anders verestert angewandt wird. Diese Tatsache könnte uns verständlich machen, warum dieser Substanz fast alle Cholineigenschaften verloren gehen.

Versuche.

Unsere Versuchsresultate wollen wir an Hand einiger Kurven, die wir meist an Katzen gewonnen haben, erläutern. Bei 0,5 mg/kg war noch keine Blutdruckwirkung zu beobachten, während bei Gabe derselben Dosis von Cholin-HCl schon eine deutliche Blutdrucksenkung erzielt wurde. Bei 5—10 mg/kg begann sich die erste Blutdrucksteigerung zu zeigen; niemals haben wir eine Senkung bei irgendeiner Dosis gesehen (im Gegensatz zu [2]). Für Dosen von 25 mg/kg, die bei Cholin vielfach schon zum Tode führen, sehen wir die Wirkung auf Abb. 1 dargestellt. Wir sehen eine Blutdrucksteigerung von 50 mm Hg nach einer ganz kurz vorübergehenden Senkung, die aber nicht regelmäßig eintritt. Auf dem Bilde sehen wir weiterhin eine Reizung der Atmung, es wird ein vermehrtes Volumen gefördert. Wichtig ist noch das Verhalten der Darmmotilität, die in situ nach Trendelenburg aufgezeichnet wurde. Wenn wir die Reaktion von Darm und Blutdruck sehen, würden wir eher auf eine sympathicotrope Wirkung schließen, jedenfalls nicht auf eine Reizwirkung des Vagus, die die Cholinester sonst aufweisen. Die Wirkung des Vagus könnte eher vermindert sein, wie man aus dem Verhalten der Pulse (z. B. Kurve 2) sieht, die durch die Blutdrucksteigerung nicht in der Zahl vermindert, sondern vermehrt

[2] Beznak u. Chain: Quart. J. exper. Physiol. **26**, 201 (1937). — [3] Fischgold, H., u. E. Chain: Proc. roy. Soc. Biol. **117**, 239 (1935).

werden. Tatsächlich sehen wir aber, daß der Vagus nicht beeinflußt wurde, denn in Versuchen der Abb. 2 wurde der Vagus gereizt, um zu sehen, ob die Wirkung am Blutdruck vermehrt oder vermindert würde. Auch der Darm zeigte bei dieser Reizstärke keinen Reizeffekt, der bei nur geringer Steigerung eintrat.

Abb. 1. Katze. Straubs Urethan-Chloralosegemisch. Die obere Kurve ist mit dem Atmungsschreiber nach Rein aufgezeichnet; Umschaltung alle Minuten. Beim Pfeil: Injektion von 25 mg/kg Cholinphosphorsäureester.

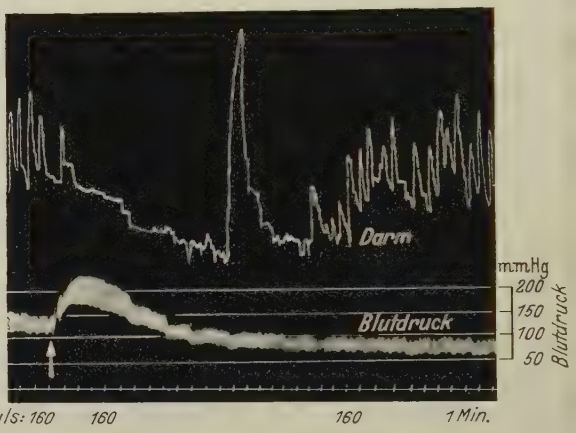


Abb. 3. Katze. 2,6 kg. Straubs Urethan-Chloralosegemisch. Nebennieren exstirpiert. Beim Pfeil: Injektion von 0,1 g/kg Cholinphosphorsäureester: sekundärer Abfall des Blutdrucks, Tonusabnahme des Darms.

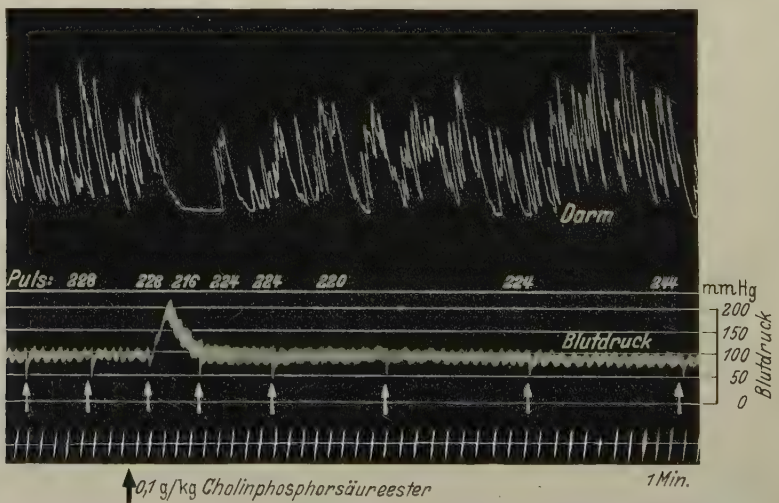


Abb. 2. Katze. 2,1 kg. Straubs Urethan-Chloralosegemisch. Bei jedem Pfeil Reiz des rechten N. vagus. Blutdruckwirkung der Reizung bleibt nach Injektion des Cholinphosphorsäureesters unverändert. Am Darm tritt keine Wirkung auf, obwohl er auf höhere Reizintensität anspricht.

Ebensowenig wurde die Wirkung des Acetylcholins in kleinen Grenzgaben irgendwie beeinflußt. Schon dieses Resultat schloß die Möglichkeit aus, daß die Blutdrucksteigerung durch das gleichzeitige Eintreten einer atropinähnlichen Wirkung in dem gesamten Molekül zustande käme, denn wir wissen ja, daß man durch Atropinisierung auch mit Cholin Blutdrucksteigerungen erzielen kann, die dann zurückzuführen sind auf das Hervortreten der Reizung sympathischer Ganglien. Diese Wirkung ist hier nicht vorhanden, da Gaben von Nikotin bis 3,5 mg/kg keine Änderung der Blutdrucksteigerung veranlaßte, was beim Cholin eintritt. Die Blutdrucksteigerung ist überhaupt sehr konstant: sie wird weder durch Atropin verändert noch durch Tachyphylaxie vermindert.

Der Effekt könnte aber, was Dosen und Blutdruck angeht, durch eine Reizwirkung auf die Nebennieren mit Ausschüttung von Adrenalin verursacht sein. Daß diese Möglichkeit aus dem Bereich der Überlegungen aus-

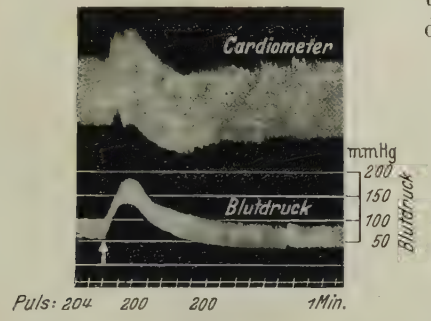


Abb. 4. Katze. Urethan. In der Cardiometerkurve während der Diastole Ausschlag nach oben. Beim Pfeil: Injektion von 0,1 g/kg Cholinphosphorsäureester.

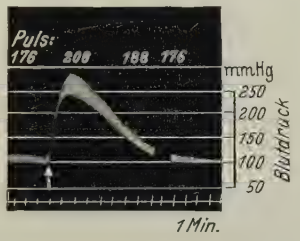


Abb. 5. Dekapitierte Katze. Beim Pfeil: Injektion von 0,1 g/kg Cholinphosphorsäureester. Blutdrucksteigerung erhalten. Pulsfrequenz während der Steigerung sogar vermehrt.

zuschalten ist, zeigt Abb. 3. Auf dieser Kurve sehen wir auch eine sekundäre langdauernde Senkung des Blutdruckes, die bei dieser Dosierung von 0,1 g/kg gelegentlich beobachtet wird, aber auch bei der doppelten Menge nicht einzutreten braucht. Auch bei diesen großen Gaben, die beim Cholin schon längst tödlich wären, wird das Herz, wie wir am Kardiometerversuch der Abb. 4 sehen, eher günstig beeinflußt. Das Herz wird auf der Kurve schon systolisch, während der Blutdruck noch über der Norm ist. Später ist der Blutdruck etwas erniedrigt, das Herz also etwas systolischer; die Amplituden sind größer, was am Blutdruck auch in anderen Versuchen in Erscheinung trat.

Der Angriff liegt peripher, denn auch nach Ausschaltung der Zentren durch Dekapitation Abb. 5 ist die Steigerung deutlich. Die gestiegene Pulsfrequenz deutet auf eine Beeinflussung der Reizbildung hin, ähnlich wie wir es beim Adrenalin sehen.

In weiteren Versuchen wurde mit der Methode von Tiefensee festgestellt, daß die Bronchien durch Cholinphosphorsäure nicht verengt

werden, was mit Cholin eintritt. Ebensowenig wurde eine parasympathische Wirkung an den Pupillen gesehen, trotz genauester Messung.

Versuche mit Ergotamin.

Alle bisherigen Versuche deuten absolut auf eine sympathicotrope Wirkung hin. Diese wollten wir noch erhärten durch die Prüfung, ob durch Ergotamin eine Umkehr zu erzielen ist. Durch Hartwick, Lineger und Koppanyi[4] wissen wir, daß diese Umkehrwirkung maßgeblich durch das angewandte Narkoticum beeinflußt wird. Während man durch Vorbehandlung mit 0,2—0,4 mg/kg Ergotamin bei Urethannarkose die Umkehr erhält, gelingt es auch durch größere Dosen nicht, weiter als bis zur Verminderung der Blutdrucksteigerung auf Adrenalin zu kommen, wenn die Narkose durch Barbitursäurederivate (Amytal, Pentobarbital, Dial) ausgeführt wird. Da wir bei unseren Versuchen prinzipiell die Darmmotilität zugleich in Betracht zogen, waren wir auf Straubs Narkosegemisch aus Chloralose und Urethan angewiesen. Es zeigte sich, daß auch Chloralose die Ergotaminumkehr hemmt. Wir sind bis zu Dosen von 5 mg/kg Ergotamin heraufgegangen,

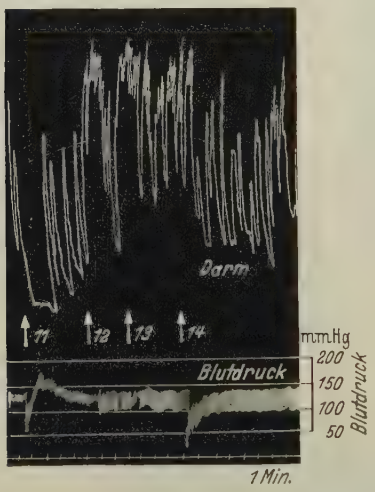


Abb. 6. Katze. 1,9 kg. Straubs Urethan-Chloralosegemisch. Das Tier hatte vorher 25 mg/kg Ergotamintartrat erhalten. Bei Injektion 11: 15 γ/kg Adrenalin; teilweise Umkehr; Darm zeigt noch Erschlaffung. Bei Injektion 12 und 13: je 0,5 mg/kg Ergotamintartrat. Bei Injektion 14: 0,1 g/kg Cholinphosphorsäureester; Blutdruckumkehr vorhanden; Darmerschlaffung weggefallen.

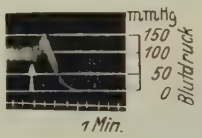


Abb. 7. Katze. 10 Minuten vorher 0,1 g/kg Cholinphosphorsäureester. Beim Pfeil: Injektion von 0,5 mg/kg Ergotamin-Methansulfonat.

ohne mehr als eine Verminderung bei Adrenalin zu erreichen. Es ist noch hinzuzusetzen, daß im Gegensatz zu den Berichten in der Literatur[5] über die Nachhaltigkeit der Wirkung der an sich geringe Erfolg schon in Zeiträumen von 10—30 Min. merklich nachließ. Auf Abb. 6 sehen wir, daß 2,5 mg/kg die Blutdrucksteigerung auf Adrenalin durchaus noch nicht vernichtet hatte. Dar Darm zeigt seine völlige Erschlaffung. Die geringere Empfindlichkeit der Darmfunktion auf Adrenalin gegenüber Ergotamin ist

[4] Hartwick, H. P., C. K. Lineger u. F. Koppanyi: J. Pharmacol. (Am.) **65**, 185 (1938). — [5] Barger in Heffter-Heubners Handbuch, Ergänzungsbd. VI.

auch schon bekannt [5]. Auf der Abbildung sehen wir aber weiterhin, daß die Cholinphosphorsäurewirkung am Blutdruck umgekehrt ist, und auch die Wirkung am Darm ist verschwunden. Am Darm ist vielleicht noch als Rest eine Tonussenkung bei erhaltener Peristaltik gerade bemerkbar. Also auch hier eine regelrechte sympathicotrope Wirkung, die sogar leichter beeinflußbar ist als die von Adrenalin, also - wenn man so räumlich sprechen darf — weniger peripher liegt.

An dieser Stelle soll aber eine merkwürdige Inkompatibilität Erwähnung finden. Die tödliche Dosis für Ergotamin beträgt bei Katzen etwa 25 bis 30 mg kg [5]. Wenn unsere Tiere vorher schon Cholinphosphorsäureester erhalten hatten, dann führten schon kleinste Dosen zum raschen Tode. Von einem dieser Versuche gebe ich Zeugnis auf Abb. 7. In diesem Versuch führte schon die kleinste Dosierung von 0,5 mg zum raschen Exitus. In erster Linie setzt die Atmung aus. Es handelt sich also hier nicht darum, daß die blutdrucksenkende Wirkung von Cholin durch Ergotamin verstärkt wird [5], denn der Effekt wird ja nur in dieser Reihenfolge erreicht (vgl. Abb. 6 und 7).

Toxizität.

Diese Frage wurde noch weiter untersucht und als Vorbedingung wurde eine Reihe von Toxizitätsuntersuchungen angestellt. In unseren Versuchen bei der Katze wurden beträchtliche Mengen gegeben (Injektionsgeschwindigkeit 15 Sek.). Wir würden die minimal toxische Dosis mit 0,3 g/kg ansetzen. Wir führen keine Zahlen an, weil zu diesem Zweck nicht ausschließlich Katzen angesetzt wurden.

Bei Ratten wurde erst versucht, durch subcutane und intraperitoneale Gabe einen tödlichen Erfolg zu erzielen. Wir gaben Dosen bis 2 g/kg intraperitoneal (3 Tiere). Erst bei diesen hohen Dosen wurde Seitenlage beobachtet (sich in 1 Stunde etwa entwickelnd), die Atmung war schnarchend, dabei groß, aber $^1/_2$ Stunde später richteten sich die Tiere wieder auf; ein Exitus erfolgte nicht. 1 g/kg hatte gar keine Erscheinungen im Gefolge. Bei Cholin sind schon viel geringere Dosen tödlich unter Krämpfen usw. Die Substanz ist also weitgehend ungiftig, noch weniger giftig als Cholin.

Um einen Eindruck zu bekommen, wie und bei welcher Dosis der Exitus bei intravenöser Gabe erfolgt, wurden Ratten operiert, nachdem sie 1 g/kg Urethan erhalten hatten. Diese Urethanmengen wurden von den Tieren glatt überwunden, und zwar waren sie am nächsten Morgen alle schon munter. Die Operation mit Freilegung der Vena jugularis wurde der Injektion in die Schwanzvene vorgezogen, um sicher zu gehen.

Von unseren zahlreichen Versuchen will ich nur erwähnen, daß von 4 Tieren, die 0,6 g/kg intravenös erhalten hatten, 2 starben (0,4 g/kg wurde von allen überstanden). Der Tod trat nach 2 Stunden ein nach schwersten Erscheinungen, die besonders die Atmung (Cheyne-Stokes) betrafen. Bei der Sektion sah man gelegentlich ein mangelhaftes Kollabieren der

Lunge bei Öffnung des Thorax. Sobald man aber die Lunge nur etwas verletzte, kollabierte sie sofort. Es handelte sich nicht um einen Bronchialkrampf, sondern um eine Verlegung der Bronchien durch Sekret. Die vermehrte Sekretion dokumentierte sich in Salivation, Sekretfluß aus der Nase, schnarchender Atmung und wurde auch bei den Tieren deutlich, die sich später erholten. Die Erholung war nach 20 Stunden vollständig.

Diese Tiere zeigten auf der Höhe der Vergiftung das gleiche schwere Bild. Man kann aber nicht voraussagen, welches der Tiere die Krankheit übersteht.

Unter denselben Bedingungen, wie eben geschildert (Urethannarkose, Operation), wurde noch grob die tödliche Dosis nach Ergotaminmethansulfonat* festgestellt. Wie in der Literatur [5] angegeben, wurde bei 8 Tieren die mittlere tödliche Dosis mit ungefähr 30 mg/kg obiger Verbindung festgestellt. Die Tiere wurden aufgeregt, der Tod trat erst nach Stunden ein bei schlechter Atmung. Dieselben Dosen intraperitoneal gegeben hatten in erster Linie Schreckhaftigkeit im Gefolge, aber die Erscheinungen an der Atmung waren nur selten zu sehen. Urethan veränderte die Toxizität nicht.

Nach dieser Vorarbeit wurde jetzt geprüft, inwieweit die bei der Katze beobachtete Unverträglichkeit sich bei der Ratte wiederfindet. Sie wurde tatsächlich gefunden, aber der Verlauf war anders. Während bei der Katze der Tod innerhalb weniger Minuten eintrat, zog sich der Verlauf hier über viele Stunden hin.

Beispiele. 1. 6 Tiere erhielten je 0,1 g kg Cholinphosphorsäureester intravenös. Im Abstand von 30 Sek. bis 5 Min. erfolgte auf demselben Wege die Injektion von 1 mg/kg Ergotaminmethansulfonat. Nach dieser Injektion: einige Minuten schlechte Atmung, teilweise ruckartige Krämpfe. Von diesen Tieren starben 2 nach $2^1/_2$ und 4 Stunden, 3 weitere nach 8—12 Stunden, nur 1 überlebte.

2. 4 Tiere erhielten 0,05 g/kg Cholinphosphorsäureester i. v., dafür 2 mg/kg Ergotamin. 1 Tier kam nach 9 Stunden ad exitum. Aufregungszustände, manchmal Weckwirkung.

3. 4 Tiere erhielten 0,2 g/kg Cholinphosphorsäureester i. v., danach 0,5 mg/kg Ergotamin. Kein Tier starb, aber alle waren nach 24 Stunden noch schwer krank in Seitenlage. Sie erholten sich erst im Verlauf von weiteren 24 Stunden.

Man sieht also auch hier die Erscheinung der Giftigkeitsverstärkung, aber von anderem Verlauf. Bei intraperitonealer Gabe wurde desgleichen nicht beobachtet, was um so merkwürdiger ist, als der Tod hier ja Stunden auf sich warten läßt. Ob Urethan dabei auch eine Rolle spielt, wurde nicht geprüft, aber ist auch unwahrscheinlich, weil die Erkrankung z. B. im dritten Versuch noch zu einer Zeit vorhanden war, wo gar keine Urethanwirkung

* Versuchsmengen wurden mir dankenswerterweise von der Firma Sandoz zur Verfügung gestellt.

mehr bemerkbar ist. Eher wird es sich um eine Erscheinung, wie sie Hindemith mit Coffein[6] und Klein[7] mit Cardiazol beobachteten, handeln. Diese Erscheinung läßt sich kurz zusammenfassen in dem Satz: Es ist nicht gleichgültig, welche Konzentration an der Zelle und wenn auch für ganz kurze Zeit, vorbeigegangen ist.

Salivation.

In den letzten Versuchen wurde beim Vergiftungsbild erwähnt, daß schnarchende Atmung und Salivation zur Beobachtung kamen. An diesem Punkte ist die Cholinwirkung auch voll erhalten. Schon bei unseren Katzenversuchen war die Salivationswirkung deutlich. Wir haben hier manchmal (besonders in Kombination mit Ergotamin) Speichelmengen von 200 bis 300 ccm innerhalb einiger Stunden gemessen. Einige Versuche mit Kaninchen ergaben schon nach 5 und 10 mg/kg intravenös eine Salivation, die 7—10 Min. nach der Gabe einsetzte und rund 45 Min. anhielt. Die Salivation läßt sich durch Atropin hemmen.

Versuche an isolierten Organen.

Nachdem hier die Möglichkeit einer parasympathischen Wirkung des Cholinphosphats gegeben war, wurde versucht, ob man vielleicht an isolierten Organen, die man höheren Konzentrationen aussetzen kann, auch dergleichen nachweisen kann. Gordonoff[8] hatte eine Reihe von Cholinen untersucht, die sich von verschiedenen Aminosäuren ableiteten und bei ihnen auch nur eine Wirkung am isolierten Organ, sonst aber gar nichts finden können.

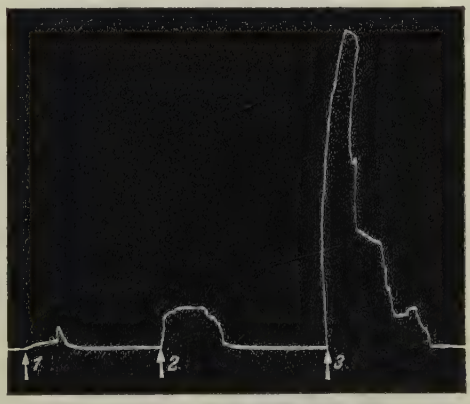


Abb. 8. Meerschweinchendünndarm.
Bei 1: Cholin 1 : 25 000,
bei 2: Cholinphosphorsäureester 1 : 50,
bei 3: Cholin 1 : 2500.

1. Wir geben von unseren Versuchen zuerst die Befunde am isolierten Darm auf Abb. 8 wieder. Die notwendige Dosierung ist allerdings enorm, wenn man die Wirksamkeit von Cholin zum Vergleich daneben hält. Die Wirkung kann sich unter geeigneten Bedingungen zu der Wirkung von $BaCl_2$ hinzuaddieren. Bei manchen Darmstücken wird

[6] Hindemith: Dargelegt in Eichler: „Kaffee u. Coffein." Jul. Springer, 1938. — [7] Klein, H.-W.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **187**, 422 (1937). — [8] Gordonoff: Biochem. Z. **160**, 451 (1925).

auch schon in geringeren Konzentrationen eine Wirkung sichtbar, aber der Abstand von der Cholinmenge ist entsprechend. In jedem Fall wird diese Wirkung durch Zugabe der Verbindung als Ca-Salz (statt Na) nie beobachtet. Aber $Ca^{\cdot\cdot}$ in äquivalenter Menge zum Calciumsalz der Cholinphosphorsäure kann auch die $BaCl_2$-Kontraktur lösen.

2. Am rectus abdominis des Frosches wurde keine cholinähnliche Wirkung gefunden, wie Abb. 9 zeigt. Insbesondere fehlt jede Potenzierung der Wirkung durch Behandlung mit Physostigmin.

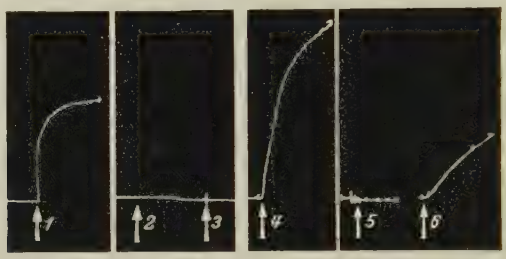


Abb. 9. Rectus abdominis von Rana temporaria.
Bei 1: Acetylcholin 1 : 1 000 000,
bei 2: Cholinphosphorsäureester 1 : 100,
bei 3: Cholin 1 : 500,
bei 4: Acetylcholin wie 1 nach Behandlung mit Physostigmin,
bei 5: Cholinphosphorsäureester wie 2 } beides nach Behandlung mit Physostigmin.
bei 6: Cholin wie 3 }

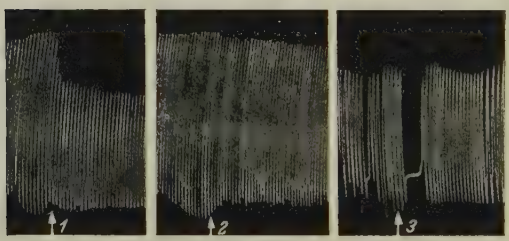


Abb. 10. Froschherz.
Bei 1: Cholin 1 : 1000,
bei 2: Cholinphosphorsäureester 1 : 1000,
bei 3: Cholinphosphorsäureester 1 : 100.

3. Das Froschherz wird bis zu hohen Konzentrationen nicht beeinflußt, wie Abb. 10 anzeigt. Auf dem dritten Teil sieht man sogar eine Begünstigung, die aber nicht relevant ist bei dem geschädigten Herzen.

Diese Versuche stimmen mit den Untersuchungen von Chain und Beznak[2] nicht überein. Vielleicht lagen dort noch Schwermetallverunreinigungen an, die wirksam wurden.

4. Orientierende Versuche am Läven-Trendelenburgschen Präparat ergaben auch eine Gefäßverengerung allerdings erst in hohen Konzentrationen von 1%. Die Wirkung ist fast 100000mal schwächer als bei

Adrenalin. Bei Vergleich mit den Resultaten am ganzen Tier ist die Wirkung 10mal schwächer als die von Adrenalin. Wir injizierten beim Vergleich die Lösungen in der Menge von 0,1 ccm in den zuführenden Schlauch. Ein Teil des Wirkungsverlustes kann man vielleicht auf eine stärkere Diffusion der hochkonzentrierten Lösung beziehen. Doch genügt diese Erklärung bei weitem nicht.

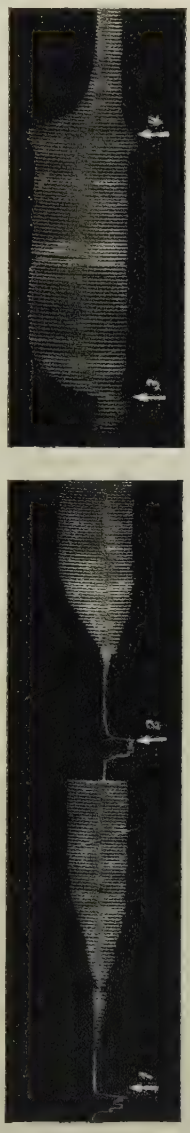


Abb. 11. Froschherz. Calciumfreie Ringerlösung. Bei 1: Cholinphosphorsaures Ca 1:10000. Bei 2: $CaCl_2$ in äquivalenter Menge gegenüber 1. Vor 3 schlägt das Herz längere Zeit mit calciumfreier Ringerlösung + 1:10000 cholinphosphorsaures Ca. Bei 3: Calciumgluconat in äquivalenten Mengen. Bei 4: Rückkehr zu cholinphosphorsaurem Ca 1:10000.

Versuch der Kombination mit Calcium.

Unter den möglichen Reaktionen einer Phosphorsäureverbindung steht weiterhin im Vordergrund die Reaktion mit Calcium. Cholinphosphorsäureester hat ein lösliches Ca-Salz. Da das Anion selbst in höheren Konzentrationen keine Beeinflussung der Aktivität des Froschherzens verursacht (Abb. 10), kann man den Versuch machen, bei den mit Ca-freiem Ringer schlagenden Herzen das fehlende Ca durch äquivalente Ca-Mengen mit verschiedenen Anionen zu ersetzen, d. h. die Ca-Ionenkonzentration nach Hastings[9] abzuschätzen. Unsere Resultate geben wir auf Abb. 11 wieder. Man sieht beim Vergleich zwischen Teil 1 und 2, daß die Dissoziation bei Cholinphosphorsäure etwas geringer ist als beim $CaCl_2$, der letzte Teil zeigt aber, daß beim Calciumgluconat dem Anion eine besondere Wirkung zukommen muß.

Die gangränisierende Wirkung wurde bei diesen drei Salzen nach einer Methode untersucht wie sie von Behrens[10] zuerst zur Verwendung kam, mit unwesentlicher Modifikation.

Auf der Rückenhaut eines Kaninchens wurden in einem breiten Streifen die Haare entfernt. Nach einigen Tagen wurden die zu vergleichenden Ca-Salzlösungen in Mengen von je 0,15 ccm intracutan injiziert. Geringere Mengen (0,1 oder 0,05 ccm) sind nicht ausreichend. Die injizierten Lösungen wurden bezüglich der Ca-Konzentration äquivalent gehalten. Die Reihen schritten in dieser Hinsicht fort nach dem Modus 1, $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_8$; eine 10%ige Lösung von Ca-Cholinphosphorsäureester mit rund 1,5% $Ca^{\cdot\cdot}$ bildete den

[9] Mc Lean u. Hastings: J. biol. Chem. (Am.) **107**, 337 (1935); **108**, 285 (1935). — [10] Behrens, B., u. Wajzer: Biochem. Z. **264**, 120 (1933).

Ausgangspunkt. Es wurde die gangrän- oder entzündungserregende Wirkung abgewartet. Dabei ergab sich folgende Reihe etwa gleicher Effekte: $CaCl_2 > 2$ Cholinphosphorsäureester > 4 aber < 8 : Ca-Gluconat, mit anderen Worten: Die gangränisierende Wirkung des Calciums als Cholinphosphorsäuresalz ist etwa 3mal ($> 2 < 4$) so stark wie als Gluconat, aber weniger als $^1/_2$mal so stark wie als Chlorid. Die Reihe stimmt also nicht mit den Verhältnissen am Froschherz überein, was Behrens[10] bei anderen Salzen schon beobachtete.

Diese Versuche vermögen wegen der geringen Dissoziationseinschränkung somit keine Vorstellung über die Giftwirkung im ganzen zu geben.

Zusammenfassung.

Cholinphosphorsäure wirkt sympathicotrop. Das zeigt sich in der Blutdrucksteigerung, die eintritt auch nach Dekapitation, nach Nebennierenentfernung, nach Nikotinvorbehandlung und auch nach Atropin, desgleichen in der Gefäßverengerung am Läwen-Trendelenburgschen Präparat.

Ebenso reagierte der Darm mit Erschlaffung, wie nach Adrenalin.

Mit Ergotamin erhält man eine Umkehrwirkung leichter als mit gleich blutdruckwirksamen Adrenalinmengen. Die Umkehr erstreckt sich auch auf den Darm.

Vagotrope Wirkung wurde vermißt bei der Reizung des N. vagus auf Herz und Darm, bei Pupille und Bronchien, desgleichen am isolierten Froschherzen und Rectus abdominis des Frosches. Sie zeigten sich erhalten bei der Salivation und Sekretion der entsprechenden Drüsen, ebenso bei hohen Konzentrationen am isolierten Darm.

Die Giftigkeit ist verschwindend und etwa 10mal geringer als von Cholinbase.

Von Interesse ist eine Giftigkeitssteigerung für Ergotamin von beträchtlichem Ausmaß. Diese Inkompaktibilität verläuft bei Ratten anders als bei Katzen, ist aber bei beiden vorhanden.

Die Reizwirkung des Ca-Salzes ist gegenüber dem Chlorid abgeschwächt, die Ionisierung des $Ca^{\cdot\cdot}$ am Froschherz nur wenig vermindert.

Aus dem Institut für Pharmakologie und Experimentelle Therapie der Universität Breslau. (Direktor: Prof. Dr. O. Eichler.)

Die Wirkung des Coffeins auf den Gasstoffwechsel der weißen Ratte.

Von

Helmut Hindemith *.

Mit 6 Textabbildungen.

(Eingegangen am 3. August 1939.)

Aus der Unverträglichkeit mancher Patienten mit Basedow gegen Kaffee leitete man eine Beziehung des im Kaffee enthaltenen Coffeins zur Schilddrüse ab. Die Symptome, wie vermehrte Pulsfrequenz, Herzklopfen, unangenehme Sensationen von seiten des Herzens und Tremor, wurden auf eine Verstärkung der Thyreotoxikose durch Coffein zurückgeführt. Durch Gasstoffwechseluntersuchungen an gesunden und kranken Menschen nach Kaffeegenuß versuchte man in einer beobachteten Steigerung des Sauerstoffverbrauchs einen Beweis für den Angriffspunkt des Coffeins an der Schilddrüse zu sehen. Eine kritische Betrachtung all dieser Untersuchungen ist von Eichler[1] vorgenommen worden. Neben einwandfreier Erhöhung des respiratorischen Stoffwechsels sind viele beobachtete Steigerungen einfach in einer zentral bedingten Unruhe zu suchen.

Die bisher vorliegenden Tierversuche[2] geben nicht mehr als Hinweise auf eine Stoffwechselsteigerung des Coffeins. Immerhin muß die Möglichkeit von Stoffwechselwirkungen zugegeben werden. Ein Angriffspunkt des Coffeins an der Schilddrüse ist durch alle diese Versuche durchaus noch nicht bewiesen, zumal ein Umweg über eine Thyroxinausschüttung mit größerer Verzögerung stattfinden müßte. Wir glauben aus anderen Gesichtspunkten eher an eine unabhängige periphere Einwirkung des Coffeins auf die Verbrennungsvorgänge, denn bei einem Angriff ähnlich dem Kolloid selbst müßte eine sympathicomimetische Wirkung des Coffeins angenommen werden. Bei geeigneter Dosierung ist aber eher eine sympathicuslähmende bzw. zentrale vaguserregende Wirkung[2] festgestellt worden. Die Ergebnisse der Wärmemessung von Hill und Hartree[3] und Saslow[4] sowie die Untersuchungen an isolierten Geweben[5, 6] geben Hinweise auf einen peripheren Angriffspunkt des Coffeins.

* Einige Versuche dieser Arbeit sind von Dr. Angstenberger ausgeführt worden.

[1] Eichler: Kaffee und Coffein. Berlin, Jul. Springer, 1938. — [2] Literatur bei Eichler: Kaffee und Coffein, S. 103—104, Berlin, Jul. Springer, 1938. — [3] Hartree, W., u. A. V. Hill: J. Physiol. (Brit.) **58**, 441 (1924). — [4] Saslow, G.: Amer. J. Physiol. **119**, 396 (1937). — [5] Bierich, K., u. A. Rosenbohm: Hoppe-Seylers Z. **184**, 246 (1929). — [6] Sherif, M. A. F.: J. Pharmacol. (Am.) **38**, 11 (1930).

Allen bisher angeführten Untersuchungen haftet eine gewisse Unsicherheit an, die durch Anlage und zu geringe Zahl der Versuche bedingt ist. Da aber Hinweise auf eine Stoffwechselwirkung vorhanden sind, schien uns eine gründliche Untersuchung dieser Fragen notwendig. Am Gasstoffwechsel, als Summe aller Stoffwechselvorgänge, begannen wir die Klärung dieses Problems.

Die hier mitgeteilten Untersuchungen erstreckten sich auf die Zeit von $2^1/_2$ Jahren. Durch die lange Ausdehnung dieser Versuche, die aus anderen Gründen vorgenommen wurde, sind wir in der Lage, an weit über 150 Versuchstieren zu einer Förderung dieser Fragen beitragen zu können.

1. Sauerstoffverbrauch nach einmaliger Coffeingabe.

Methodik.

Die Untersuchungen wurden an weißen Ratten ausgeführt, die wegen der Länge der Versuchsdauer aus verschiedenen Zuchten in verschiedenen Größen entnommen wurden. Die Tiere wurden längere Zeit bei gleichmäßiger gemischter Diät gehalten, dann erst wurde der Normalverbrauch an Sauerstoff gemessen. Zu Beginn jedes Versuchs waren die Tiere 12—14 Stunden nüchtern. Um die Streuung der Normalwerte kennenzulernen und um zu einem möglichst genauen Normalmittelwert zu kommen, wurden mehrere Normalversuche vor dem Beginn jedes Coffeinversuchs bei jeder Ratte vorgeschaltet. Die Messung des Sauerstoffverbrauchs erfolgte wie üblich. Die ausgeatmete Kohlensäure wurde an Natronkalk gebunden, durch $CaCl_2$ im Versuchsraum wurde eine gleichmäßige Trockenheit der Luft gewährleistet. Als Versuchsgefäß benutzten wir eine Serie von acht Exsikkatoren, der Sauerstoff wurde aus graduierten Büretten zugeleitet. Durch Einstellen in einen Wasserthermostaten wurde bei allen Versuchen eine gleichmäßige Temperatur von 20—21° im Innern der Versuchsgefäße eingehalten. Der Sauerstoffverbrauch wurde über längere Zeit in Abständen von 2—4 Stunden abgelesen und nach Reduktion auf 760 mm Hg und 0° auf g Körpergewicht und Stunde berechnet. Die Verabfolgung des Coffeins erfolgte als 1%ige Lösung von Coffeinum purum in physiologischer Kochsalzlösung subcutan oder peroral. Bei der Auswertung und Darstellung der Versuchsergebnisse wurden nach den üblichen Methoden die Mittelwerte mit ihren mittleren Fehlern ausgerechnet und die Zahlen einer statistischen Betrachtung unterzogen. Die Reihenfolge der Darstellung der Versuchsergebnisse wurde aus später zu behandelnden Gesichtspunkten gewählt. In den Abbildungen ist immer der Normalwert mit einfacher und dreifacher Streuung den Werten nach Coffeinbehandlung gegenübergestellt. Die Streuungskurven sind dünner ausgezogen, so daß die Zusammengehörigkeit und damit auch die Echtheit der Abweichungen sofort ersichtlich ist. Bei der Berechnung untersuchten und verwerteten wir nicht die Veränderung des Stoffwechsels jeder Ratte einzeln, sondern wegen unseres großen Materials war es möglich, immer die Durchschnitte und Streuungen zu benutzen. Die Normalwerte zeigten auch über die verschiedenen Jahre hin etwa dieselbe Größe, nur die bekannte Abhängigkeit des Stoffwechsels vom Gewicht gab hier Unterschiede. Man sieht daraus, daß die behauptete verschiedene Stoffwechselhöhe der einzelnen Zuchten sich durchaus in der Normalstreuungskurve unterbringen läßt, denn unser Tiermaterial hatte eine verschiedene Herkunft.

Resultate.

Kurve 1—3 der Abb. 1 stellen die Versuche in den Monaten Januar bis Mai 1937 dar. Kurve 1 demonstriert die Wirkung von 100 mg/kg (Mittelwert aus 32 Versuchen). Wir sehen die lange Dauer der Stoffwechselsteigerung nach 100 mg kg, die am 2. Tage noch sicher, am 3. Tage vielleicht vorhanden ist. Die Wirkung von 50 mg/kg ist wesentlich geringer (Kurve 2, 23 Versuche), aber noch in der 6. Stunde deutlich. Die Versuche mit

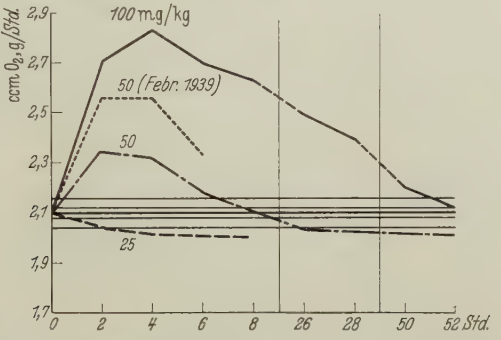


Abb. 1. Wirkung von subcutanen Coffeingaben auf den Sauerstoffverbrauch der weißen Ratte. Januar bis Mai 1937.

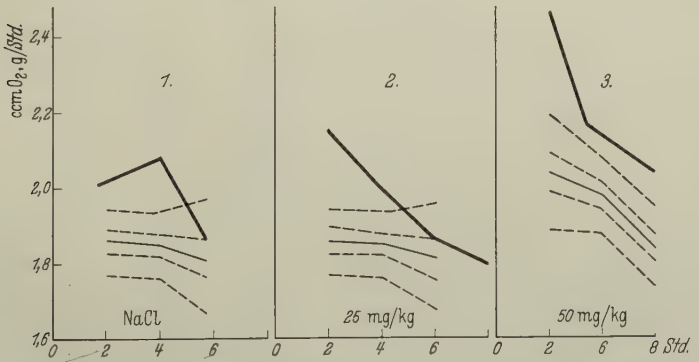


Abb. 2. Wirkung von peroralen Coffeingaben auf den O_2-Verbrauch der weißen Ratte. Januar bis März 1938.

25 mg/kg (Mittelwert aus 9 Versuchen) zeigen die Wirkungslosigkeit dieser Dosis. Da bei dieser Dosis von Forst und Druckrey Bewegungsvermehrungen festgestellt wurden, können wir hieran den geringen Einfluß von Bewegungen auf unsere Stoffwechselversuche ermessen. Diese Behauptung wird noch belegt durch unsere später referierten Versuche über den respiratorischen Quotienten.

In der 2. Abbildung sind die Versuche vom Januar bis März 1938 mit peroraler Verabfolgung dargestellt. Da die perorale Darreichung den Sauerstoffverbrauch an sich schon steigern könnte, haben wir zum Ver-

gleich Kontrollen mit NaCl-Lösung ausgeführt. Kurve 1 zeigt eine geringe Vermehrung des Sauerstoffverbrauchs über 4 Stunden. Es bleibt dahingestellt, ob es sich um eine Folge der gesteigerten Resorptionstätigkeit oder einer Aufregung der Tiere durch das Sondieren handelt. Nach Abzug dieser reinen Erregungswirkung bleibt bei Kurve 2 eine Stoffwechselsteigerung durch 25 mg/kg nicht mehr bestehen. Bei 50 mg/kg (Kurve 3) bleibt eine Steigerung, die aber nur 2 Stunden anhält, auch dann noch bestehen, wenn man statt mit unbehandelten Tieren mit solchen vergleicht, die entsprechende Mengen Kochsalz erhielten.

Die Abb. 3 und 4 B zeigen die Resultate der Versuche in den Monaten Juni bis August 1938 bei subcutaner Verabfolgung des Coffeins.

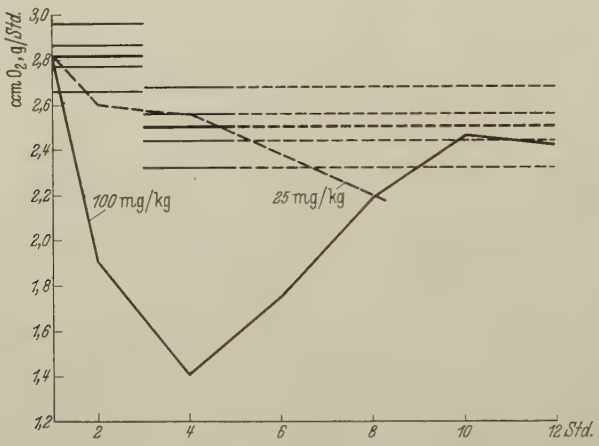


Abb. 3. Wirkung von subcutanen Coffeingaben auf den Sauerstoffverbrauch der weißen Ratte. Juni bis August 1938.

Auf Abb. 3 sieht man, wie die Dosis von 25 mg/kg (8 Versuche) auch hier ein geringes Absinken des Sauerstoffverbrauchs unter den Normalwert zeigt. Der Normalwert wurde hier, wie auch in einer Reihe anderer Untersuchungen in einzelnen Perioden bestimmt. Dabei zeigte sich ein geringer Abfall der Sauerstoffwerte im Verlaufe des Versuchs.

Bei 100 mg/kg (8 Versuche) ist die bei der kleinen Dosis angedeutete Senkung des Gasstoffwechsels deutlicher ausgeprägt. Selbst 8 Stunden nach der Injektion ist mit 12% die Senkung noch deutlich. Die gleiche Senkung ist bei den Versuchen mit Bestimmung des respiratorischen Quotienten nach subcutaner Verabfolgung von 100 mg/kg Coffein (Tabelle 3) in der Zeit vom Mai bis Juli 1938 zu beobachten. Die darauffolgende geringfügige Senkung hält einer strengen Bewertung nicht mehr stand. Diese von 25 mg zu 100 mg sich steigernde Senkung setzt sich bei der nächst höheren Dosis nicht fort, wie man auf Abb. 4 B sieht. Erst in der 6. Stunde nach der Injektion ist eine geringfügige Senkung des Sauerstoffverbrauchs

festzustellen. Auf Abb. 4 sind Versuche mit peroraler Darreichung von 100 und 150 mg kg dargestellt, die in den Monaten August bis Dezember 1938 ausgeführt wurden. Der Normalwert ist der Mittelwert aus 150 Versuchen, bei den Coffeinversuchen sind die Werte aus 32 bzw. 18 Versuchen gebildet. Kurve A zeigt bei 100 mg/kg eine deutliche Senkung des Sauerstoffverbrauchs, mit einem Minimum nach 4 Stunden, dann stiegen die Werte langsam wieder an, ganz wie bei Abb. 3. Am nächsten Tage besteht offenbar noch eine Verminderung des Sauerstoffverbrauchs unter die Norm, denn die Tiere hatten an dem Abend zwar nicht viel, aber doch etwas zu fressen bekommen. Bei Erhöhung der Dosis auf 150 mg/kg (Kurve B) bei denselben Tieren nach längerer Erholungszeit ergibt sich jedenfalls keine Stoffwechselsenkung, die stärker, sondern schwächer ist als bei der niederen Dosis. Die höhere Dosis zeigt eine stärkere Wirkung erst am nächsten Tage.

Wenn wir die Gesamtheit der Versuche übersehen, finden wir anscheinend ganz unübersichtliche und differente Verhältnisse, einmal

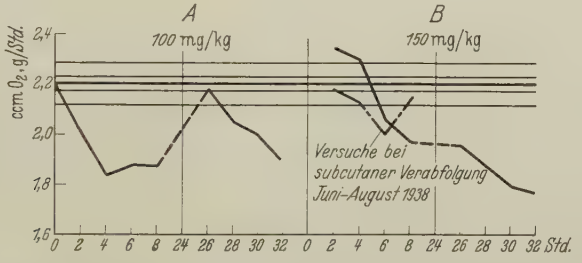


Abb. 4. Wirkung von peroralen Coffeingaben auf den Sauerstoffverbrauch der weißen Ratte. August bis Dezember 1937.

Steigerung, einmal Senkung des Sauerstoffverbrauchs. Ein System bringen wir in die Verhältnisse erst hinein, wenn wir beachten, daß die Steigerungen des Stoffwechsels in Untersuchungen festgestellt wurden, die in den Monaten Januar bis Mai stattfanden, während die ganze übrige Zeit jede Wirkung vermissen ließ. Diese Aussage steht absolut fest und wurde durch drei Winter an verschiedenen Tierlieferungen bestätigt gefunden. In jedem Fall war das Versuchsmaterial so umfangreich, daß eine Täuschung oder ein Zufall uns absolut ausgeschlossen erscheinen.

Jahreszeitliche Abhängigkeit pharmakologischer Reaktionen sind nicht unbekannt, aber der Zyklus, von dem wir hier berichten, hat mit der Frage der Hormonumstellung im Frühjahr offenbar nichts zu tun. Wir haben an verschiedene Dinge gedacht, die solche Wirkung hervorrufen könnten, z. B. experimentierten wir im Sommer und Winter in derselben Temperatur von 20°. Es bestand die Möglichkeit, daß durch die höheren Coffeingaben eine Art Kollaps zustande kam. Dieser mußte aber bei dem dünneren Sommerfell leichter zu Unterkühlungen und damit zu Stoffwechselsenkungen führen als bei dem einen besseren Schutz bietenden Winterfell.

Wir haben zur Entscheidung die einfachste Versuchsanordnung, nämlich die thermoelektrische Temperaturmessung, nicht angewandt, weil uns die Apparatur damals nicht zur Verfügung stand. Das werden wir bei Gelegenheit nachholen. Deshalb versuchten wir die Tiere bei niederer Temperatur zu halten, indem wir sie in einen Kasten in Eis packten und dort 4 Wochen bei 10° vor Beginn der Versuche hielten. Wir hofften, nicht in dieser Zeit ein Winterfell anzuzüchten, sondern nahmen nur an, daß der Kreislauf sich gegen Abkühlung resistenter verhalten würde. Die Resultate geben wir auf Tabelle 1, A wieder, sie sind vollkommen negativ.

Tabelle 1.

	Zahl der Vers.	O_2-Verbrauch g/Std.	Differenz gegenüber Normalversuch	Änderung	
A. Normalversuch	24				
1.—2. Std.		1,87 ± 0,058			
3. 4. Std.		1,83 ± 0,054			
100 mg/kg Coff. subc.	8				Tiere bei 10° gehalten
1.—2. Std.		1,47 ± 0,067	− 0,4 ± 0,088	− 22,0	
3.—4. Std.		1,30 ± 0,071	− 0,53 ± 0,088	− 29,0	
5.—6. Std.		1,38 ± 0,1	− 0,45 ± 0,114	− 24,0	
7.—8. Std.		1,65 ± 0,13	− 0,18 ± 0,144	(− 10,0)	
B. Normalversuch	8				Thermostaten-temp. 20°
1.—2. Std.		1,78 ± 0,065			
3.—4. Std.		1,65 ± 0,067			
Normalversuch	18				Thermostaten-temp. 28°
1.—2. Std.		1,21 ± 0,024	− 0,57 ± 0,070	− 33,0	
3.—4. Std.		1,30 ± 0,031	− 0,35 ± 0,073	− 26,0	
100 mg/kg Coff. subc.	6				
1.—2. Std.		1,4 ± 0,05	− 0,19 ± 0,056	+ 16,0	
3.—4. Std.		1,5 ± 0,084	+ 0,2 ± 0,090	+ 15,0	
5.—6. Std.		1,32 ± 0,086	+ 0,02 ± 0,088	—	
7.—8. Std.		1,42 ± 0,056	+ 0,12 ± 0,063	+ 9,0	

Einen besseren Erfolg hatten wir mit einer zweiten Versuchsanordnung. Wir brachten die Tiere in einen Thermostaten von 28°, also dem Zustand des absoluten Schutzes gegen Abkühlung, wo schon die Schlaffheit das Eingreifen der chemischen Wärmeregulation zeigt. Die Resultate zeigen auf Tabelle 1, B die bei denselben Tieren bei 20° ausgebliebene Stoffwechselsteigerung. Nicht entscheiden können wir, ob hier die von uns angenommene periphere Wirkung des Coffeins plötzlich aufgetaucht ist, oder ob die chemische Wärmeregulation durch die Coffeindosis teilweise außer Funktion gesetzt wurde. Wir würden uns fast für diese Auffassung entscheiden, weil der Stoffwechsel trotz Coffein den Normalwert für 20° noch nicht erreichte. Eine Entscheidung in dieser Richtung könnte die Untersuchung des respiratorischen Quotienten ergeben. Wir haben sie nicht ausgeführt.

Wenn alle Versuche absolut in einer Richtung liegen, wollen wir doch nicht verschweigen, daß bei einer Gruppe von Tieren (Juli 1938) bei der Dosierung 50 mg kg ein Abweichen des Resultats erhalten wurde, das wir auf Abb. 5 wiedergeben. Die Stoffwechselsteigerung bei diesem Tier reicht zwar in der Dauer bei weitem nicht an die Winterversuche heran, ist aber doch deutlich.

Die Versuche fielen an das Ende einer Versuchsperiode, worauf das Institut geschlossen wurde, so daß eine Nachprüfung nicht erfolgen konnte. Einen Grund für die Abweichung bestand weder in der Zucht noch in der Verpflegung der Tiere.

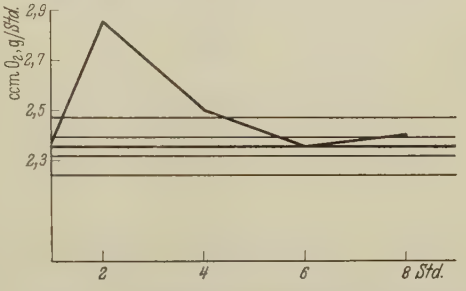


Abb. 5. Wirkung von 50 mg/kg Coffein subcutan auf den Sauerstoffverbrauch der weißen Ratte. Juli 1938.

2. Sauerstoffverbrauch bei chronischer Darreichung des Coffeins.

Methodik.

Da die Ratten nicht täglich über längere Zeit im Stoffwechselapparat untersucht werden können, haben wir drei verschiedene Gruppen von je acht Tieren an

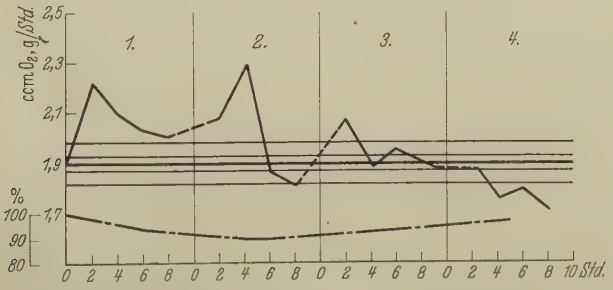


Abb. 6. Wirkung chronischer subcutaner Coffeingaben auf den Sauerstoffverbrauch der weißen Ratte, 1.—4. Tag. Februar bis März 1938.

verschiedenen Tagen bei täglicher Verabfolgung von 10 mg Coffein subcutan untersucht, so, daß Gruppe 1 am ersten Tage, Gruppe 2 nach der zweiten Injektion usw. zum Stoffwechsel kamen. Ein Vergleich war durch die Versuchszahl möglich.

Abb. 6 zeigt die Ergebnisse dieser Untersuchungen, die in den Monaten Februar bis März durchgeführt wurden. Man erkennt, daß die gewonnenen Stoffwechselsteigerungen schon am 3. Tage gering sind und am 4. Tage ganz verschwinden. Dieser Zustand konnte noch über eine Reihe von Tagen weiter verfolgt werden. Dann allerdings kommt es bei einigen Tieren zu einer plötzlichen Empfindlichkeitssteigerung, die bei manchen Tieren

auch nach monatelanger Coffeinzufuhr nicht verschwindet. Die im unteren Abschnitt eingezeichnete, von Eichler und Mügge[7] beschriebene Gewichtskurve zeigt während des erhöhten Sauerstoffverbrauchs eine Gewichtsabnahme bis zum 3. Tage, danach wieder einen allmählichen Gewichtsanstieg. Wir geben hier einen Grund für die damalige Beobachtung, die auf einer Kumulation des Coffeins zu beruhen scheint.

3. Sauerstoffverbrauch und respiratorischer Quotient nach einmaliger Coffeingabe.

Methodik.

Zu gleichzeitigen Bestimmungen des verbrauchten Sauerstoffs und der ausgeatmeten Kohlensäure wurde in einem geschlossenen Kreislauf die Kohlensäure an Natronkalk gebunden und ihre Mengen durch Wägung bestimmt. Die Zirkulation wurde durch ein Pumpsystem aufrechterhalten, der Sauerstoff wieder aus einer graduierten Bürette zugeleitet. Die Versuchsgefäße befanden sich ebenfalls in einem Thermostaten bei 20°.

In diesem Abschnitt beschränkten wir uns auf die Untersuchung der schon vorher bekannten wirksamen Dosis von 100 mg/kg. Die Versuche erstreckten sich von November 1937 bis Juli 1938, enthalten also einen ganzen Zyklus unserer oben beschriebenen Stoffwechseländerungen. Entsprechend müssen wir eine Unterteilung vornehmen, in Versuche von Dezember 1937 bis April 1938 und Ende Mai bis Juli 1938. Die hier gebrauchten Tiere wurden in den oben angegebenen Zahlen nicht verwandt und erweitern und bestätigen restlos unsere oben referierten Sauerstoffversuche. Diese Ergebnisse haben wir in den Tabellen 2, 3 und 4 dargestellt. Auf Tabelle 2 richten wir unser Augenmerk sofort auf den respiratorischen Quotienten. Dieser zeigt in den ersten 2 Stunden nach der Injektion keine Änderung, sinkt aber in den folgenden Stunden ab. Die Sicherheit dieser Senkung ergibt sich durch das aufeinanderfolgende Vorkommen des Ausschlages in derselben Richtung, obwohl die Differenz nur das Doppelte der Streuung ergibt. Die Größe der Senkung bei unseren Durchschnitten wird außerdem verdeckt durch die Tatsache, daß bei den einzelnen Tieren die Senkung des respiratorischen Quotienten zu verschiedenen Zeiten einsetzt, so daß eine Minderung sich beim Durchschnitt zum Teil ausgleicht. Sie wird erst deutlicher, wenn wir diese zeitlichen Unterschiede außer acht lassen und die tiefsten respiratorischen Quotientenwerte, sowohl der Normalversuche als auch der Coffeinversuche, zusammenrechnen. Dann ergibt sich (Tabelle 4, obere Hälfte) eine beträchtliche Senkung des respiratorischen Quotienten um 0,105 unter dem Normalwert.

Tabelle 3 zeigt dieselben Versuche im Mai bis Juli 1938. Der respiratorische Quotient zeigt hier in den ersten 2 Stunden nach der Injektion eine

[7] Eichler, O., u. H. Mügge: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **168**, 89 (1932).

Tabelle 2. Sauerstoffverbrauch und respiratorischer Quotient nach subcutaner Injektion von 100 mg/kg Coffein (November 1937 bis April 1938).

	Zahl der Vers.	O_2-Verbrauch g/Std.	Respiratorischer Quotient	Differenz gegen Normalversuch		Änderung in % O_2-Verbrauch
				O_2-Verbrauch	respiratorischer Quotient	
Normalwert	65	2,05 ± 0,046	0,766 ± 0,007			
100 mg/kg Coff. subc.						
1.–2. Std.	20	2,55 ± 0,134	0,780 ± 0,026	+ 0,50 ± 0,140	+ 0,014 ± 0,027	+ 25,0
3.–4. Std.	20	2,51 ± 0,111	0,719 ± 0,024	+ 0,46 ± 0,120	− 0,047 ± 0,025	+ 23,0
5.–6. Std.	20	2,46 ± 0,093	0,730 ± 0,022	+ 0,41 ± 0,100	− 0,036 ± 0,023	+ 21,0
7.–8. Std.	17	2,36 ± 0,114	0,722 ± 0,021	+ 0,31 ± 0,120	− 0,044 ± 0,022	+ 16,0
24 Std. nach der Injektion						
1.–2. Std.	15	2,15 ± 0,116	0,742 ± 0,02	+ 0,10 ± 0,120	− 0,024 ± 0,021	—
3.–4. Std.	12	1,93 ± 0,114	0,731 ± 0,016	− 0,12 ± 0,120	− 0,035 ± 0,017	—

Tabelle 3. Sauerstoffverbrauch und respiratorischer Quotient nach subcutaner Injektion von 100 mg/kg Coffein (Mai bis Juli 1938).

	Zahl der Vers.	O_2-Verbrauch g/Std.	Respiratorischer Quotient	Differenz gegen Normalwert		Änderung in % O_2-Verbrauch
				O_2-Verbrauch	respiratorischer Quotient	
Normalwert	100	2,23 ± 0,037	0,780 ± 0,005			
100 mg/kg Coff. subc.						
1.–2. Std.	12	1,89 ± 0,142	0,832 ± 0,018	− 0,34 ± 0,144	+ 0,052 ± 0,019	− 15,0
3.–4. Std.	12	1,82 ± 0,125	0,821 ± 0,025	− 0,41 ± 0,130	+ 0,041 ± 0,026	− 18,0
5.–6. Std.	12	1,77 ± 0,147	0,766 ± 0,018	− 0,46 ± 0,150	− 0,014 ± 0,019	− 20,0
7.–8. Std.	11	1,73 ± 0,125	0,722 ± 0,027	− 0,50 ± 0,130	− 0,058 ± 0,028	− 22,0
24 Std. nach der Injektion						
1.–2. Std.	8	2,12 ± 0,205	0,736 ± 0,017	− 0,11 ± 0,210	− 0,044 ± 0,018	—
3.–4. Std.	7	2,06 ± 0,115	0,762 ± 0,019	− 0,17 ± 0,120	− 0,018 ± 0,020	—

Tabelle 4. Zusammenstellung der tiefsten respiratorischen Quotientenwerte sämtlicher Tiere.

	Zahl der Vers.	Respiratorischer Quotient	Differenz gegen Normalwert	
Normalwert	20	0,739 ± 0,009	− 0,105 ± 0,022	Versuche aus Tabelle 2
Coffeinwert	20	0,634 ± 0,021		
Normalwert	12	0,714 ± 0,005	− 0,016 ± 0,031	Versuche aus Tabelle 3
Coffeinwert	12	0,698 ± 0,03		

deutliche Steigerung von 0,052 und geht dann auf den Normalwert zurück. Die Senkungen in der 7.—8. Stunde und am nächsten Tage sind wegen ihrer isolierten Stellung zu klein und zu flüchtig und deshalb nicht wesentlich. Bei der Zusammenstellung der tiefsten respiratorischen Quotientenwerte zeigte sich auch keine Differenz gegenüber dem Normalwert, der in dieser Zeit um 0,025 niedriger liegt als in den vorhergehenden Versuchen (unterer Teil der Tabelle 4).

Der respiratorische Quotient gibt in gewissen Grenzen Aufschluß über den Anteil der Fette usw. am Stoffwechsel. Senkungen des respiratorischen Quotienten ergeben sich als Versuchsfehler bei einer eintretenden Hyperventilation, sonst nur bei Verbrennung von Fett bis zum Betrage von 0,66, eventuell bei Umwandlung von Fetten in Kohlehydrate noch niedere Werte. Diese scheinen hier vorzuliegen, da eine vorhergehende Hyperventilation einerseits hätte nachweisbar sein müssen durch vorherige Steigerung des respiratorischen Quotienten, andererseits dürfte die respiratorische Phase nie so lange anhalten. Solche Erklärung kann vielleicht bei den Sommerversuchen Gültigkeit haben, wenn wir nicht die Ausschüttung von Adrenalin verantwortlich machen wollten. Solche Adrenalinwirkungen auf den Stoffwechsel zeigen sich in einer primären Steigerung des respiratorischen Quotienten, allerdings zusammen mit tatsächlicher Vermehrung des O_2-Verbrauchs. Deshalb kann dieser Vorgang nicht verantwortlich gemacht werden für die Ergebnisse der Winterversuche, und wir werden in den beiden Resultaten einen prinzipiellen Unterschied im Stoffwechsel sehen, der sich auch in dem respiratorischen Quotienten der teilweise identischen Tiere während der verschiedenen Jahreszeiten andeutet. Diese Beobachtung scheint uns weiterhin gegen die Auffassung der gesenkten Körpertemperatur zu sprechen. Der ganze Verlauf spricht noch gegen eine andere mögliche Auffassung. Man könnte sagen, daß durch die Erschöpfung der Kohlehydratvorräte der respiratorische Quotient selbstverständlich sinken muß. Dazu gehört aber vorerst die nachgewiesene Verbrennung der Kohlehydrate. Wir würden einen Verlauf wie bei den Sommertieren erwarten müssen.

Diskussion.

An dieser Stelle wollen wir eingehen auf eine frühere [1] Auslegung eines Teiles unserer Versuche. Bei dieser Auslegung handelt es sich um die Unterscheidung zwischen der Wirkung einer kurz vorübergehenden hohen Konzentration von Coffein, die zwangsläufig sekundäre Vorgänge im Gefolge hat (Hysteresis), von der Wirkung einer niederen Konzentration, die dauernd zu ihrer Wirksamkeit vorhanden sein muß. Dabei wird diese hohe Konzentration nicht unabhängig von der Zeit ihrer Dauer sein (Nutzzeit). Es war dargestellt, daß bei peroraler Gabe nur die letzte Wirkung wegen der langsamen Anflutung zustande kommen könnte, die besonders durch die Zwischenschaltung der Leber noch bedeutsamer wird. Diese Vorstellung ist durchaus nicht absurd, sondern eher trivial, denn daß hohe Konzentrationen, ganz vorübergehend auftretend, solche Nachwirkungen geben, weiß man durch die Injektion z. B. von anorganischen Salzen, bei denen keine rasche Zerstörung oder Ausscheidung in Frage kommt. Für diese Auffassung wurden unsere peroralen Versuche neben den anderen herangeholt. Diese Versuche können nach unseren Resultaten nur noch zum Teil dafür angeführt werden, weil es sich herausgestellt hat, daß es sich um die Änderung des Tiermaterials durch die Jahreszeit gehandelt hat. Trotzdem ist diese Auffassung damit nicht hinfällig, weil wir bei peroraler Gabe auch im Winter eine viel schwächere Wirkung finden, die durch die Konzentration (vgl. Abb. 1 und 2) nicht erklärbar ist. Bei der bekannten langsamen Zerstörung des Coffeins durch die Ratte, die sich über Tage hinzieht (s. Anm. 1 und Beobachtungen von Vollmer im Institut), wird man ohne weiteres annehmen können, daß die Verteilung des Coffeins nach 6 Stunden bei subcutaner und peroraler Gabe identisch ist. Die früher vertretene Auffassung, daß ein Vorgang, ähnlich dem von Hill und Saslow gefundenen, für diese Stoffwechselsteigerung verantwortlich zu machen sei, entfällt, weil der respiratorische Quotient eine Beziehung zum Kohlehydratstoffwechsel nicht ergibt. Diese Versuchsergebnisse gelten nur für die Ratte, wie die folgenden Versuche mit Angstenberger beim Kaninchen ergeben.

Zusammenfassung.

1. An einer großen Zahl von Ratten wurde die Einwirkung des Coffeins auf den Gasstoffwechsel in einem Zeitraum von $2^1/_2$ Jahren verfolgt.

2. Der Normalverbrauch an Sauerstoff schwankt bei den einzelnen Tieren erheblich. Es läßt sich aber eine konstante Abhängigkeit der Stoffwechselgröße vom Gewicht feststellen.

3. Es wurden jahreszeitliche Unterschiede in der Coffeinwirkung auf den Stoffwechsel aufgezeigt. In den Sommer- und Herbstmonaten bewirkte Coffein eine Erniedrigung des Sauerstoffverbrauchs, während es in den Winter- und Frühjahrsmonaten bis Mai zu einer eindeutigen Steigerung

kommt. Eine genauere zeitliche Übereinstimmung mit der hormonalen Umstellung, z. B. Sexualcyclus, konnte nicht festgestellt werden.

4. Perorale und subcutane Verabfolgung zeigen keine qualitativen, sondern lediglich quantitative Unterschiede. Für diese Unterschiede spielt wahrscheinlich die vorübergehende Konzentrationshöhe eine Rolle.

5. Die Versuche mit Bestimmung des respiratorischen Quotienten deuten auf ein Eingreifen des Coffeins in den Fettstoffwechsel hin, aber nur in den Versuchen mit eindeutiger Erhöhung des Sauerstoffverbrauchs, also im Winter. Solche Andeutungen fehlen bei den Versuchen im Sommer, hier ergibt sich anfangs eine Erhöhung des respiratorischen Quotienten.

6. Bei chronischer Coffeindarreichung wird in den Stoffwechselversuchen im Winter schon am 4. Tage durch Coffein keine Vermehrung des Sauerstoffverbrauchs gesehen. Vielleicht hemmen die durch Kumulation sich ansammelnden kleinen Coffeinkonzentrationen allmählich die akute Wirkung.

Aus dem Institut für Pharmakologie und Experimentelle Therapie der Universität Breslau. (Direktor: Prof. Dr. O. Eichler.)

Die Wirkung des Coffeins auf den Gasstoffwechsel des Kaninchens.

Von

Helmut Hindemith und **Rudolf Angstenberger.**

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 3. August 1939.)

Versuche an Ratten [1] hatten ergeben, daß bei subcutanen Gaben von Coffein Stoffwechselsteigerungen auftraten, die bei den doppelten peroralen Gaben nicht zur Beobachtung kamen. Als möglicher Grund für diese Beobachtung wurde für wahrscheinlich gehalten, daß an den Erfolgsorganen die Höhe der Konzentrationen, die eben die Stoffwechselsteigerung verursachen (auch wenn sie nur kurze Zeit bestanden), jene Reizschwelle eines auslösenden Vorganges überschritt, die bei peroraler Gabe vielleicht nur bei ganz hoher Dosierung erreicht werden konnte. Es wäre nun von Interesse gewesen, diese Erfahrungen noch auszudehnen auf die intravenöse Injektion. Bei intravenöser Darreichung mußte die vorübergehende Konzentration noch höher sein. Bei Ratten ist solch eine Injektion nur schwer auszuführen, und deshalb, ferner um unsere Kenntnisse an einer anderen Tierart zu erweitern, experimentierten wir am Kaninchen. Es war dabei durchaus nicht notwendig und zu erwarten, daß die intravenöse Injektion unbedingt eine Stoffwechselsteigerung dieser Art auslöste, da zwar die Konzentration höher wird, aber die Zeit vielleicht nicht ausreichte, wie bei der Reizung der Nerven eine Nutzzeit notwendig ist. Als wir unsere Versuche begannen, ist uns im übrigen eines der wichtigsten Resultate von Hindemith [1], nämlich der Mangel jeder Stoffwechselsteigerung während der Sommermonate bei Ratten, vollkommen unbekannt gewesen. Vielleicht hätten wir dann die Versuche nicht gerade im Sommer ausgeführt.

Methodik.

Unsere Kaninchen hatten ein Gewicht von 1,9—2,8 kg. Den aufgebundenen Tieren wurde in Lokalanaesthesie eine Trachealkanüle eingeführt und $^1/_2$ Stunde nach der Operation wurden sie in ein Kreislaufsystem eingeschaltet. Der Sauerstoff wurde aus einem Gasometer entnommen, die ausgeatmete Kohlensäure durch eine Reihe von Natronkalktürmen geleitet und durch Wägung bestimmt. Zur Fortbewegung der Luft

[1] Hindemith, vgl. die Arbeit in diesem Bande.

wurde die Atemkraft des Kaninchens durch Ventile gesteuert. Durch großen Querschnitt des Systems wurde der Widerstand niedrig gehalten, was man auch an der ruhigen Atmung der Tiere kontrollieren konnte. Der Sauerstoffverbrauch wurde in halbstündigen, die Kohlensäure in 1 bis-3stündigen Abständen bestimmt. Der Verabfolgung des Coffeins, das wir hier als 1%ige Lösung intravenös oder peroral gaben, gingen mehrere Normalperioden bis zur Einstellung eines gleichmäßigen Ausgangswertes voraus. Die Tiere verhielten sich, abgesehen von einer kurzen Zeit nach der Tracheotomie, absolut still, nur selten wurde ein Befreiungsversuch unternommen, der aber wegen seiner Kürze auf den Sauerstoffverbrauch in der ganzen Periode keinen Einfluß hatte. Voraussetzung für die Unbeweglichkeit des Kaninchens ist die absolute Ruhe im Laboratoriumszimmer, jedes Geräusch, Sprechen und auch Rauchen in der Nähe des Tieres muß vermieden werden. Die Körpertemperatur wurde durch sorgfältige Erwärmung annähernd konstant auf 39° gehalten, mit Schwankung von höchstens 38,7—39,2°. Die Atemfrequenz blieb ebenfalls während des ganzen Versuchs gleichmäßig, nur unmittelbar nach der intravenösen Injektion, die immer 45 Sek. dauerte, stieg sie ganz vorübergehend an. Der Blutzucker wurde nach Hagedorn-Jensen bestimmt. Wir untersuchten den Blutzucker vor der Operation, vor Beginn der Coffeininjektion und dann mehrere Male im Verlaufe der Coffeinwirkung. Der Sauerstoffverbrauch wurde nach Reduktion auf Normalbedingungen für Kilogramm/Körpergewicht und Stunde berechnet.

Ergebnisse.

1. Sauerstoffverbrauch.

Man muß für die Verwertung des Sauerstoffverbrauchs die erste halbe Stunde nach der Operation unberücksichtigt lassen, weil das Tier dann unruhig ist. Vor allem haben wir die Wirkung der Resorption des Lokalanaestheticums ausschalten wollen, wenn auch die Mengen sehr klein waren. Unter diesen Voraussetzungen erhält man bei den einzelnen Tieren aufeinanderfolgende Werte mit ziemlich geringer Streuung. Bei Untersuchung einer größeren Zahl von Tieren läßt sich auch trotz der manchmal unterschiedlichen Stoffwechselgrößen ein geeigneter Mittelwert errechnen. Wir haben unseren Normalwert von 492 ± 9 ccm Sauerstoff pro kg und Stunde aus 91 Halbstundenversuchsperioden an 23 Tieren gewonnen. Die Versuche mit verschiedenen Dosen und verschiedener Darreichungsform haben wir in der Abbildung dargestellt. Im Gegensatz zu den Rattenversuchen sahen wir hier allgemein, daß auch im Sommer eine Stoffwechselsteigerung in Erscheinung tritt. Wenn wir als nächsten Faktor die Empfindlichkeit der Tiere im Verhältnis zu jenen betrachten, so sehen wir, daß hier bei Gaben von 12,5 mg/kg, allerdings bei intravenöser Injektion, schon eine Stoffwechselsteigerung vorhanden ist. 37,5 mg/kg, die bei Ratten bei peroraler

Gabe nur zu ganz geringfügigen Steigerungen führten, waren hier, was die Höhe anbetrifft, bedeutend wirksamer, während die Länge der Wirkung ungefähr identisch ist. Die Entwicklung der Erscheinung erfolgte bei intravenöser Dosierung rascher. Als weiteres möchten wir hinweisen auf den Verlauf im einzelnen bei der Kurve der höheren intravenösen Gabe, indem nämlich etwa von der 3. Stunde ab eine Senkung des erhöhten Stoffwechsels erfolgt, und nach einem Durchgang durch ein Minimum ein neuer Anstieg einsetzt. Dieser sekundäre Anstieg ist bei allen Tieren vorhanden, und wir halten ihn für relevant als Zeichen verschiedener Stoffwechselvorgänge, über deren theoretische Bedeutung wir an dieser Stelle keine weiteren Betrachtungen anschließen wollen, bevor weitere Untersuchungen besonders

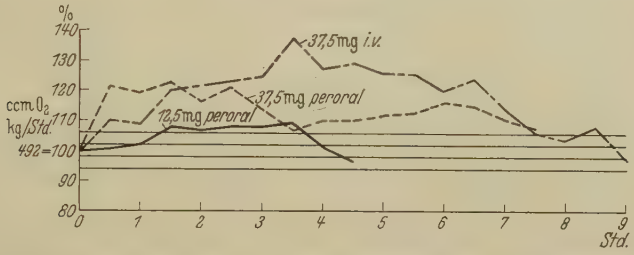


Abb. 1. Wirkung des Coffeins auf den Sauerstoffverbrauch des Kaninchens.

über den Verbleib des Coffeins vorliegen. Wir müssen nach den Untersuchungen von Gebhardt[2] annehmen, daß die Ausscheidung des Coffeins bei intravenöser Gabe rascher stattfindet als bei peroraler. Als letztes möchten wir nur noch auf die unerwartete Verzögerung des Stoffwechselanstieges bei der kleinen Dosierung von 12,5 mg hinweisen.

2. Blutzuckerwerte.

Die Beobachtung des Sauerstoffverbrauches bei beiden intravenösen Gaben, besonders die zweiphasische Wirkung der größeren Gabe, ließ vermuten, daß die erste Phase der Wirkung zustande kommt auf dem Wege über eine Adrenalinausschüttung. Adrenalinausschüttungen wurden in der Literatur[3] ausschließlich bei größeren intravenösen Gaben beobachtet. Da Adrenalin verhältnismäßig rasch zu Stoffwechselsteigerungen und Steigerung des Blutzuckers führt, konnten wir durch Untersuchung des Blutzuckers auf solche Adrenalinausschüttungen schließen. Tatsächlich finden wir, daß in der ersten Zeit bei intravenöser Gabe solche Blutzuckersteigerungen vorhanden sind. Wir möchten diese Darstellung aber nur mit äußerster Vorsicht verwertet wissen. Im allgemeinen müssen wir feststellen, daß die Steigerung des Blutzuckers bei peroraler Gabe nicht vorhanden ist. Wir finden im Durchschnitt in den gesamten Versuchen eine Senkung von

[2] Gebhardt, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 696 (1939). — [3] Eichler: Kaffee und Coffein, S. 115—116, Springer 1938.

142 auf 128 mg%, während wir die Steigerung nach der höheren intravenösen Gabe schon erwähnten. Diese Resultate entsprechen durchaus den Angaben in der Literatur. Wenn wir diese primäre Stoffwechselsteigerung auf die Adrenalinausschüttung beziehen würden, die bei kleinen Dosen fehlt, dann könnte die Verzögerung der Reaktion bei der kleinen intravenösen Gabe verständlich werden. Gegen diese Auffassung spricht das raschere Einsetzen der Stoffwechselvorgänge bei peroraler Gabe, wenn auch das Maximum gegenüber der intravenösen Gabe verzögert auftritt. Wenn hier die perorale Gabe solche Steigerungen zeigt, könnte man höchstens den Ort der Stoffwechselsteigerung in der Leber suchen.

3. Respiratorischer Quotient.

Die von Hindemith gefundene Senkung des respiratorischen Quotienten beim Kaninchen wiederzufinden, wäre deshalb für uns eine Genugtuung gewesen, weil wir dann die Möglichkeit gehabt hätten, die erwartete Änderung des Fettstoffwechsels weiter bei einem Tiere zu beobachten, das uns ein größeres Material zur chemischen Untersuchung geboten hätte. Leider wurde unsere Erwartung nicht erfüllt, wir fanden eine Steigerung des respiratorischen Quotienten, die wir auf der Tabelle niederlegen. Wir

Tabelle.

	Respiratorischer Quotient	Differenz gegen Normalversuche
Normalwert	0,839 ± 0,031	
37,5 mg/kg Coff. intravenös		
1.—2. Std.	0,907 ± 0,039	+ 0,068 ± 0,045
3.—5. Std.	0,902 ± 0,05	+ 0,063 ± 0,058
Normalwert	0,843 ± 0,018	
37,5 mg/kg Coff. peroral		
1. Std.	0,858 ± 0,018	+ 0,015 ± 0,025
2. Std.	0,902 ± 0,029	+ 0,059 ± 0,03
3. Std.	0,879 ± 0,029	+ 0,036 ± 0,03
4. Std.	0,907 ± 0,024	+ 0,064 ± 0,03
5. Std.	0,906 ± 0,016	+ 0,063 ± 0,024
6. Std.	0,942 ± 0,036	+ 0,099 ± 0,04

sehen in jedem Falle eine Steigerung des Quotienten über die gesamte Beobachtungszeit und finden damit die bisher in den Vordergrund gestellte Beeinflussung des Kohlehydratstoffwechsels angedeutet. In keiner Phase ergibt sich eine Störung im Verlauf des respiratorischen Quotienten, die hervorgerufen wäre durch vermehrte Ventilation mit nachheriger Einsparung der Kohlensäure. Die Steigerung des respiratorischen Quotienten und damit die vermehrte Kohlehydratverbrennung findet sich auch bei den Versuchen mit peroraler Gabe, bedarf also auf keinen Fall der im vorher-

gehenden Abschnitt diskutierten Adrenalinausschüttung. Der Stoffwechsel ist also beim Kaninchen anders beeinflußt als bei der Ratte, wobei wir die Jahreszeit nicht in Rechnung stellen. Unsere Tiere waren nur 12—14 Stunden nüchtern. Es mag sein, daß diese Zeit zu kurz gewesen ist, und man bei längerem Hungern auch hier eine beschleunigte Fettumwandlung hätte bemerken können, aber selbst unter diesen Bedingungen würde sich die Identität mit der Ratte nicht ergeben.

Da eine vermehrte Kohlehydratverbrennung teilweise mit einer vermehrten Glykogenmobilisierung parallel gehen könnte, haben wir bei unseren sämtlichen Werten den Korrelationskoeffizienten zwischen dem respiratorischen Quotienten und den Werten des Blutzuckers ausgerechnet. Sein Wert ist für 38 Normalversuche mit $-0{,}288 \pm 0{,}15$ gefunden worden. Nach der Streuung ist diese Beziehung nicht echt, würde aber höchstens ergeben, daß bei erhöhtem Kohlehydratverbrauch sich ein niedrigerer Blutzucker findet. Bei 45 Wertepaaren unter der Einwirkung von Coffein beträgt er $+0{,}149 \pm 0{,}14$, ein Wert, der vollkommen ohne Bedeutung ist, d. h. also, eine Beziehung zwischen Mobilisierung und Verbrauch nicht zeigt.

Zusammenfassung.

Am Kaninchen verursacht sowohl perorale als intravenöse Injektion von Coffein eine Stoffwechselsteigerung in den Sommermonaten. Diese Stoffwechselsteigerung geht einher mit Erhöhung des respiratorischen Quotienten, also mit einer vermehrten Verbrennung von Kohlehydraten. Eine Beziehung zwischen Höhe des Blutzuckers und Steigerung des respiratorischen Quotienten ergibt sich nicht. Eine Steigerung des Blutzuckers allein durch Coffein ist nur bei der höheren intravenösen Gabe von Coffein zu beobachten.

Aus dem Institut für Pharmakologie und experimentelle Therapie der Universität Breslau. (Direktor: Prof. Dr. O. Eichler.)

Untersuchungen über die Saponin- und Saponin-Collargolanämie des Kaninchens.

Von

Helmut Hindemith und **Lothar Müller.**

(Eingegangen am 3. August 1939.)

Die hier beschriebenen Versuche dienten als Grundlage einer anderen Untersuchung. Die Erfahrungen, die wir bei der Anämieerzeugung beim Kaninchen gemacht haben, wollen wir hier kurz mitteilen.

Methodik.

Hinsichtlich der Anordnung unserer Versuche hielten wir uns an die Angaben von Gottlebe[1]. Die Hämoglobinbestimmung wurde nach Sahli ausgeführt. Erythrocyten und Leukocyten in der Thoma-Zeissschen Kammer ausgezählt. Zur Auszählung und Differenzierung der weißen Blutkörperchen wurden Ausstriche angefertigt und nach Giemsa gefärbt. Die Zahl der Thrombocyten wurde nach Fonio bestimmt. Zur Injektion verwendeten wir Saponinum purum album (Merck) und Collargol von „Heyden".

Versuchsergebnisse.

Die Ergebnisse unserer Versuche haben wir in den nachstehenden Tabellen zusammengefaßt. Die Tiere, die wir auf Grund der verschiedenartigen Dosierungen nicht zusammenfassen konnten, sind gesondert beschrieben.

In der ersten Tabelle sind die Ergebnisse unserer Normalversuche an 13 Tieren im Vergleich mit den Werten von Klieneberger[2] und Vedder[3] zusammengestellt. Bei den Ausstrichpräparaten fällt, wie auch die anderen Autoren bestätigen, beim normalen Tier eine Anisocytose auf. Bei den kernhaltigen Blutkörperchen überwogen bei uns ausnahmslos die Lymphocyten (bis zu 75%, kleine und große Lymphocyten zusammen), den Hauptteil des Restes machten die Pseudoeosinophilen aus.

Tabelle 1.

	Erythrocyten in Mill.	Hämoglobin %	Leukocyten	Thrombocyten	Färbeindex
Klieneberger	4,33—6,38	63—89 Sahli	3450—12650	126000—250000	0,67—0,89
Vedder	2,74—8,52	59—115 Leitz	2350—27600	—	0,45—1,20
Unsere Ergebnisse ..	4,10—5,60	60—79 Sahli	4200—10400	206000—387000	0,60—0,87

[1] Gottlebe: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 354 (1936). — [2] Klieneberger: Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere, 1927. — [3] Vedder: Z. exper. Med. **73**, 402 (1930).

Tabelle 2 zeigt die Blutwerte nach Saponinbehandlung. Das Durchschnittsgewicht der Tiere betrug 2 kg. Die Tiere erhielten am 1. und 2. Tage eine Dosis von 0,66 mg, am 4. Tage 0,5 mg/kg Saponin. Schon diese wenigen Injektionen reichten aus, um eine ziemlich starke Anämie zu erzeugen. Nach Aussetzen der Injektionen sanken Hb, Erythrocyten- und Leukocytenwerte ab und erreichten etwa am 11. Tage nach Beginn der Behandlung ihr Minimum, um dann anzusteigen. Die Leukocyten zeigten übereinstimmend bei allen Tieren einen flüchtigen Anstieg. Im Blutausstrich fand sich eine Zunahme der Pseudoeosinophilen auf Kosten der Lymphocyten und eine erhebliche Aniso- und Poikilocytose. Die Polychromasie war wenig ausgeprägt. Da uns aber an der Erzielung einer länger währenden Anämie lag, wurde erneut mit den Injektionen begonnen, und zwar bekamen die Tiere auf längere Zeit 0,5 mg/kg. Es entwickelte sich nur langsam trotz täglicher Applizierungen eine Anämie. In der Stärke erreichte diese zweite Anämie ungefähr den Grad der vorhergehenden. Erythrocyten und Hämoglobin sanken auf die gleichen, zum Teil auf niedrigere Werte, desgleichen der Färbeindex. Die Leukocyten schwankten nur wenig um den Ausgangswert, die anfangs beobachtete Leukocytose blieb aus. Als trotz täglicher Saponingaben die Werte nicht weiter fielen, steigerten wir die Dosen. In zweitägigem Abstand injizierten wir wieder 0,66 mg/kg. Diese höheren Dosierungen brachten einen erneuten Tiefstand. Die Thrombocytenabnahme überschritt kaum die Grenze der Norm, im weißen Blutbild konnte eine geringe Lymphocytose gefunden werden.

Tabelle 2. Verhalten des Hämoglobins, der Erythrocyten, Leukocyten, Thrombocyten und des Färbeindex bei Saponinbehandlung.

Durchschnittswerte von vier Tieren. (Erythrocyten in Millionen, Hämoglobin in % Sahli, Leukocyten in 1000 und Thrombocyten in 100000.)

	1	3	5	7	11	14	17	27	31	34	38	43	49 Tage
Erythrocyten	5,1	4,4	4,2	3,8	3,4	4,2	4,8	4,6	4,0	3,5	3,6	3,6	3,3
Hämoglobin..	68	59	55	47	47	52	59	52	45	43	42	43	39
Leukocyten ..	7,6	20,4	7,7	6,2	5,7	7,7	8,6	7,5	6,3	7,9	6,4	5,6	8,1
Thrombocyten	328	268	254	297	277	295	279	340	293	259	249	228	194
Färbeindex ..	0,67	0,64	0,66	0,61	0,67	0,62	0,60	0,57	0,56	0,61	0,59	0,58	0,58

Tabelle 3 zeigt die Ergebnisse der Saponin-Collargolbehandlung als Durchschnittswerte von 3 Tieren.

Die 3 Tiere wurden täglich gespritzt, und zwar wurde mit 0,5 mg/kg Saponin und 0,3 mg/kg Collargol begonnen, nach 5 Tagen aber die Dosis auf 0,75 mg/kg Saponin und 0,45 mg/kg Collargol erhöht. Unter der Wirkung der Injektionen verringerte sich die Zahl der Erythrocyten innerhalb von 12 Tagen um rund 40% im Durchschnitt, hielt sich in den nächsten Tagen um die 3 Millionengrenze, stieg dann aber bei allen Tieren trotz täglicher Injektionen an.

Tabelle 3. Verhalten des Hämoglobins, der Erythrocyten, Leukocyten, Thrombocyten und des Färbeindex bei Saponin-Collargolbehandlung. Durchschnittswerte von 3 Tieren. (Erythrocyten in Millionen, Hämoglobin in % Sahli, Leukocyten in 1000 und Thrombocyten in 100000.)

	1	4	8	12	18	22	28 Tage
Erythrocyten	5,0	4,5	3,7	3,2	3,3	3,8	4,2
Hämoglobin.....	62	56	48	41	42	46	47
Leukocyten	6,5	5,0	7,8	10,6	6,4	10,3	7,1
Thrombocyten	298	242	262	188	186	220	218
Färbeindex.....	0,61	0,61	0,67	0,67	0,63	0,59	0,56

Ein ähnliches Bild ergab sich beim Hämoglobin, während die Leukocytenzahl nur in den ersten Tagen um ein Geringes sank, nach 4 Tagen aber anstieg und dann konstant etwas über der Norm lag. Die Thrombocyten zeigten Bewegungen innerhalb der Normalschwankung. Im Differentialbild konnte eine wesentliche Verschiebung zugunsten der Lymphocyten festgestellt werden. Die täglichen Vergiftungen waren auf die Dauer mit dem Leben der Tiere nicht vereinbar; sie starben alle ungefähr nach 1 Monat.

Im Gegensatz zur reinen Saponinanämie fanden wir bei diesen Tieren, daß trotz zahlreicher Injektionen sich die Zahl der Erythrocyten nach einem erreichten Tiefstand ständig erhöhte. Der Anstieg des Hämoglobins war nur gering, Thrombocyten- und Färbeindexverlauf glichen sich ungefähr. Dem schnellen, immer beobachteten Anstieg der Leukocyten bei Saponininjektionen gegenüber waren hier die Verhältnisse schwankend.

Da bei weiteren Versuchen ein Teil der Tiere zu verschiedenen Zeiten mit verschiedenen Dosen gespritzt wurde und deshalb nicht zu Durchschnittswerten vereinigt werden kann, müssen diese Tiere gesondert besprochen werden.

Kaninchen 1. 2,1 kg, erhielt dreimal 1,19 mg/kg Saponin und 0,71 mg/kg Collargol injiziert. 12 Stunden nach der dritten Injektion war das Tier tot.

Kaninchen 2. 2,5 kg. Dosis: dreimal 1,0 mg/kg Saponin und 0,6 mg/kg Collargol. Einen Tag nach der letzten Injektion wurde das erste Mal Blut entnommen. Der Hämoglobingehalt war von 78 auf 42, also um 36%, gesunken. Die Erythrocyten fielen von 4,5 auf 3,0 Millionen, die Leukocyten stiegen von 5600 auf 14500, also hier ein primärer Anstieg der Leukocyten, wie es bei den reinen Saponintieren festgestellt werden konnte. Den rapidesten Fall hatten die Thrombocyten aufzuweisen, von 325000 auf 60000, den niedrigsten Wert, den wir je auszählen konnten. 3 Tage darauf erhielten wir folgende Werte: 38% Hämoglobin, 3,0 Millionen Erythrocyten, 4200 Leukocyten, 140000 Thrombocyten. Der Hb-Gehalt war also um ein Geringes weiter gesunken, die Zahl der roten Blutkörperchen blieb auf der gleichen Höhe, die Leukocyten waren auf einen subnormalen Wert zurückgegangen, die Thrombocyten stiegen etwas. Im Ausstrich war eine Lymphocytose bemerkenswert: von 64% (große und kleine Lymphocyten) auf 85%. Ohne daß eine weitere Injektion verabfolgt wurde, ging das Tier am achten Tage unter den Symptomen einer hochgradigen Kachexie ein.

Kaninchen 3. 3,1 kg, erhielt drei Injektionen von 0,81 mg/kg Saponin und 0,48 mg/kg Collargol. Nach den Erfahrungen mit den anderen beiden Tieren ließen wir es sich erst wieder einmal erholen. Die Erythrocyten, Leukocyten und Thrombocyten hatten nach 14 Tagen annähernd ihre normalen Werte wieder erreicht,

dagegen hielt das Hämoglobin mit diesem Regenerationstempo nicht Schritt. Da das Tier aber auch körperlich einen durchaus befriedigenden Eindruck machte, wurde mit neuen Injektionen begonnen, und zwar 0,5 mg/kg Saponin und 0,3 mg/kg Collargol. Die Anämie setzte zwar jetzt langsamer ein, war aber doch noch gut ausgeprägt. Nach Gottlebes Angaben wurde die Zahl der Erythrocyten durch weitere Injektionen über 16 Tage hindurch teils um, teils unter der 4-Millionen-Grenze gehalten. Als dann aufgehört wurde, setzte eine stetige Regeneration ein, die weit über die Norm ging. (Normal 4,6 Millionen, regeneriert 5,5 Millionen.) Dann wurde noch einmal von neuem injiziert, zuerst mit einer Zwischendosis (0,75 mg/kg Saponin und 0,45 mg/kg Collargol), dann später aber mit der Ausgangsdosis, die jetzt gut vertragen wurde. Innerhalb von knapp 1 Monat bekam das Tier 24 neue Injektionen. Die Erythrocyten sanken jetzt unter der Wirkung dieser anfangs zu hohen Dosen verhältnismäßig langsam, desgleichen das Hämoglobin und die Thrombocyten, während die Zahl der Leukocyten wesentlichen Schwankungen nicht unterworfen war. Nach diesem erneuten Tiefstand setzte unaufhaltsam — bei demselben Tier also zum dritten Male — die Besserung ein, die nach 36 Tagen mit annähernd normalen Werten abgeschlossen war.

Kaninchen 4. 1,9 kg, erhielt anfangs in zweitägigem Abstand 0,5 mg/kg Saponin und 0,3 mg/kg Collargol. Nach den ersten sieben Injektionen wurde dann 14 Tage hindurch täglich diese Dosis verabfolgt. Der Anämieverlauf war folgender: Die Erythrocyten fielen, geringe Anstiege ausgenommen, innerhalb von 12 Tagen von 5,2 auf 3,9 Millionen. Während weiterer 19 Tage wurden sie in der Nähe dieser Zahl gehalten. Das Bild des Hb-Verlaufs deckt sich fast mit dem der Erythrocytenwerte, von 74 auf 40%. Der Färbeindex ging von 0,72 auf 0,51 herunter, die Thrombocyten wurden auf die Hälfte reduziert, bei den Leukocyten erfolgte nach 7 Tagen ein deutlicher Anstieg, dann blieben sie aber annähernd normal. Die Differenzen im weißen Blutbild waren hier unwesentlich, deutlich war eine Aniso-, Poikilocytose und Polychromasie. Nachdem mit den Injektionen aufgehört wurde, trat auch bei diesem Tier eine rasche Regeneration ein. Innerhalb von 7 Tagen war die Zahl der Erythrocyten um rund 2 Millionen gestiegen und lag um 600000 über dem Ausgangswert.

Kaninchen 5. 1,9 kg, behandelt wie Kaninchen 4. Der Abfall der Erythrocyten setzte aber nur ganz allmählich ein, innerhalb von 20 Tagen um nur 1 Million. Das Hämoglobin sank um 25%, die Leukocyten stiegen vom siebenten bis zum zehnten Tag um 8600 und hielten sich zwischen 11800 und 14000 (normal 5400) über 7 Tage. Durch die täglichen neuen Injektionen wurde aber ein schnellerer Fall ausgelöst. Am 34. Tage ergaben sich folgende Werte: Erythrocyten 3,0 Millionen, Hämoglobin 32%, Leukocyten 10200, Thrombocyten 152000, 42% Lymphocyten und 54% Pseudoeosinophile. Auch dieses Tier erholte sich nach 7 Tagen: Erythrocyten 4,5 Millionen, Hämoglobin 50%. Drei neue Injektionen von 0,75 mg/kg Saponin und 0,45 mg/kg Collargol lösten eine neue Anämie aus, die sich über 22 Tage hielt. Die letzten Werte waren: 3,7 Millionen Erythrocyten, 36% Hämoglobin, 6200 Leukocyten und 254000 Thrombocyten. Der einzige Fall, wo wir etwas Ähnliches sahen wie Gottlebe.

Besprechung.

Bei unseren Versuchen reichten 0,5 mg/kg Saponin als Anfangsdosis zur Erzeugung einer Anämie gut aus, nach der Erholung der Tiere aber mußte nicht nur die Zahl der Injektionen wesentlich erhöht, sondern auch die Dosis gesteigert werden. Die Tiere waren resistenter geworden. Es genügte aber zum Halten einer deutlichen Anämie, die Dosen nicht übermäßig zu vergrößern, bei langdauernden Versuchen können die Tiere durch Injektionen unter Kontrolle des Blutbildes ausreichend lange Zeit am Leben

erhalten werden. Wie Ucko[4] konnten auch wir eine vorübergehende Leukocytose und eine sich langsam entwickelnde Leukopenie beobachten.

Nach den Angaben von Gottlebe ist es auch uns gelungen, durch eine Mischung von Saponin und Collargol bei Kaninchen eine Anämie hervorzurufen; jedoch sind die Ergebnisse durchaus nicht so einheitlich wie bei der reinen Saponinanämie. Nach unseren Erfahrungen sind die Gottlebeschen Dosen von 0,8 mg/kg Saponin und 0,48 mg/kg Collargol als Anfangsdosen zu hoch, 0,5 mg/kg Saponin und 0,3 mg/kg Collargol haben sich bei uns als geeignet erwiesen. Später muß allerdings mit den Dosen in die Höhe gegangen werden, wobei die Injektionen unter dauernder Kontrolle des Blutbildes zu verabfolgen sind. Die entscheidende Rolle, die der Zusatz des Metallkolloids spielen sollte, konnten wir nicht bestätigen, denn trotzdem wir uns genau an Gottlebes Angaben hielten, blieb bei unseren Tieren mit einer Ausnahme, die man gelegentlich auch ohne Collargol beobachtet, die Anämie nicht länger bestehen als die reine Saponinanämie, ja es setzte sogar teilweise eine übermäßige Regeneration ein. Unsere Ergebnisse widersprechen also den Mitteilungen von Gottlebe und Mansfeld[5], stimmen aber voll und ganz mit den Ergebnissen von Schales und Reimer[6] überein.

Bei einigen Tieren konnten kurz vor dem Tode eigenartige Veränderungen, die in einem plötzlichen Ansteigen sämtlicher morphologischer Bestandteile des Blutes bestanden, mit Ausnahme der Lymphocyten, die sich beträchtlich verminderten, beobachtet werden. Wir neigen zu der Annahme, daß es sich dabei um eine Kollapserscheinung handelt, und die Veränderung in einem Austritt von Plasma ins Gewebe besteht, daß also die Vermehrung nur eine relative, durch Eindickung des Blutes hervorgerufene, ist. Erhärtend für diese Annahme kann angeführt werden, daß die Blutentnahme nur schwer durchzuführen war.

Zusammenfassung.

1. Es wurde bei Kaninchen durch intravenöse Injektionen von 0,5 bzw. 0,75 mg/kg Saponin eine Anämie erzeugt. Die Anämie ist nach Aussetzen der Injektionen reversibel.

2. Durch intravenöse Injektionen von Saponin und Collargol in verschiedenen Dosen wurde ebenfalls eine Anämie hervorgerufen; auch diese Anämie besserte sich innerhalb kurzer Zeit und kann nach unseren Ergebnissen nicht als Testmethode für Leberpräparate verwendet werden.

3. Durch Zusatz des Collargols wird sogar die Regeneration begünstigt.

4. Bei wiederholten Saponingaben wird die Empfindlichkeit geringer, bei Zusatz von Collargol gilt dasselbe, soweit das Blutbild in Betracht kommt, aber die Tiere werden kachektisch.

---

[4] Ucko: Z. Klin. Med. **117**, 1. — [5] Mansfeld u. Sos: Klin. Wschr. **1938**, Nr. 11, S. 386. — [6] Schales u. Reimer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 551 (1938).

Aus dem Physiologischen und Allgemeinen Pathologischen Institut der Universität Debrecen.

Das Antiadrenalin.

I. Mitteilung: Synthetische Herstellung eines Adrenalinantigens. Aminoadrenalin und Adrenalin-azoproteine.

Von

S. Went und **L. Kesztyüs.**

(Eingegangen am 9. August 1939.)

Wir haben in einer früheren Arbeit (1) festgestellt, daß das Thyreoglobulin — d. h. die natürliche Eiweißverbindung des Thyreoideahormons — im lebenden tierischen Organismus eine starke Antigenwirkung entfaltet. In diesen Versuchen verhielt sich das parenteral eingeführte Thyreoglobulin als ein chemospezifisches Antigen, in dem Sinne, daß das Thyroxin neben dem Eiweißschlepper die Rolle der spezifischen Gruppe spielte, wodurch es die Spezifität der entstandenen Antikörper beeinflußt bzw. bestimmt hatte. Die wichtigste Folge dieses Verhaltens war, daß auf parenterale Verabreichung des Thyreoglobulins Antikörper erzeugt wurden, welche einen manifesten antagonistischen Einfluß gegen die stoffwechselsteigernde Wirkung des Thyroxins ausübten. Es konnte auch festgestellt werden, daß der thyroxinhemmende Faktor bei Ratten durch Sera von mit Thyreoglobulin vorbehandelten Tieren auch auf Normaltiere übertragbar ist, d. h. daß diese Antihormone — ähnlich wie die übrigen Immunkörper — auch im Blute der Versuchstiere in erheblichen Mengen auftreten.

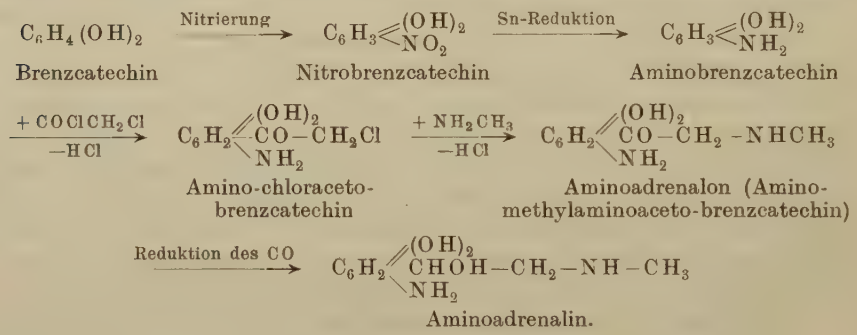
Es lag nun auf Grund dieser Beobachtungen der Gedanke nahe, daß ähnliche Antigenwirkungen auch durch Eiweißverbindungen von anderen Hormonen erzeugt werden können. Zur experimentellen Ausführung dieser theoretischen Annahme haben wir aus mehreren Gründen das Adrenalin ausgewählt.

Die Synthese eines Adrenalinantigens, d. h. eines Adrenalin-Eiweißkomplexes, könnte theoretisch auf dem Grunde durchgeführt werden, daß Proteine als amphotäre Elektrolyten imstande sind, sowohl mit Säuren wie auch mit Basen — unter letzteren also auch mit dem basischen Adrenalin — in Verbindung zu treten. Die Tatsache aber, daß nach $(NH_4)_2SO_4$-Präzipitation der entsprechenden Eiweiß-Adrenalinmischungen das Adrenalin in den Filtraten quantitativ nachgewiesen werden konnte, zeigte, daß diese Bindung in der Wirklichkeit nicht zustande kommt.

Eine andere Möglichkeit war, das Adrenalin zu diazotieren und das Diazoadrenalin mittels der Pauly schen Diazoreaktion in das Eiweißmolekül einzuführen. Nachdem aber nur primäre aromatische Amine diazotierbar sind, mußte vor allem in den Brenzcatechinring eine NH_2-Gruppe eingeführt, d. h. das Aminoadrenalin hergestellt werden.

Die Synthese des Aminoadrenalins konnte theoretisch auf drei verschiedenen Wegen durchgeführt werden. Die einfachste Möglichkeit wäre, das Adrenalin zu nitrieren und das Nitroadrenalin zu reduzieren. Eine direkte Nitrierung des Adrenalins kann aber darum nicht ausgeführt werden, weil während der notwendigen Manipulationen die empfindliche Seitenkette des Adrenalinmoleküls zugrunde geht. Ein anderer Weg war, das Adrenalin mit Diazoniumchlorid zu kuppeln; es entsteht auf diese Weise ein Azofarbstoff, das Benzolazoadrenalin, welches durch Reduktion mittels HCl und $SnCl_2$ theoretisch auf Anilin und Aminoadrenalin zerfällt. Die energische Reduktion löste aber nicht nur die Azobindung auf, sondern griff auch selbst das Adrenalinmolekül an.

Die dritte Möglichkeit war nun, das Aminoadrenalin durch Adrenalinsynthese herzustellen. Das Prinzip des Verfahrens ist: Nitrierung des Brenzcatechins zu Nitrobrenzcatechin; Reduktion des Nitrobrenzcatechins zu Aminobrenzcatechin; Herstellung des Aminoadrenalins vom Aminobrenzcatechin durch die Stolzsche Adrenalinsynthese (2). Das Schema des ganzen Prozesses kann in folgender Weise zusammengestellt werden:



1. Herstellung des Amino- bzw. Diazoadrenalins.

a) Nitrobrenzcatechin. — Prinzip: Das Brenzcatechin wurde in ätherischer Lösung mittels konz. Salpetersäure zu Nitrobrenzcatechin nitriert.

20 g Brenzcatechin wurden in 500 ccm Äther gelöst und danach 6 ccm konz. HNO_3 zugefügt. Der Äther wurde nach 24stündigem Stehen abdestilliert, die zurückgebliebene schwarze Salbe mit wasserfreiem Benzol gekocht und filtriert. Nach Abkühlen scheidet das Nitrobrenzcatechin in nadelförmigen Kristallen aus. Das Filtrieren und Kochen mit Benzol wird solange wiederholt, bis kein Nitrobrenzcatechin mehr zu extrahieren ist. Ausbeute: 6 g Nitrobrenzcatechin (28% der Theorie).

b) Aminobrenzcatechin. — Prinzip: Das Nitrobrenzcatechin wurde mittels Sn und HCl zu Aminobrenzcatechin reduziert.

25 g Nitrobrenzcatechin wurden in 25 ccm Wasser gelöst und 60 g granuliertes Zinn sowie 100 ccm rauchende Salzsäure zugegeben. Die Lösung bleibt 12 Stunden lang stehen, danach mit dest. Wasser auf 4000 ccm

verdünnt. Das Zinn wurde durch Einführung von H_2S ausgefällt, die Lösung filtriert, im Vakuum bis zu 50 cmm eingedampft, wodurch das Aminobrenzcatechin in langen dunkelgefärbten Nadeln auskristallisiert. Das Aminobrenzcatechin wird aus verdünnter Salzsäure umkristallisiert. Ausbeute: beinahe quantitativ.

c) Amino-chloraceto-brenzcatechin. — Prinzip: Durch Kochen des Aminobrenzcatechins mit Chlorazetylchlorid in Benzolmedium entsteht Amino-chloraceto-brenzcatechin.

50 g Aminobrenzcatechin wurden mit 55—60 g Chlorazetylchlorid (hergestellt von Phosphoroxychlorid in Säureüberschuß) und 250 ccm trockenem Benzol 3—4 Tage lang gekocht. Die Lösung wird unter Verdampfen von Salzsäure anfangs gelb, später schwarz gefärbt. Das Benzol wird nach 4 Tagen abdestilliert, der Rückstand mit Tetrachlorkohlenstoff gekocht und das abgeschiedene Amino-chloraceto-brenzcatechin heiß abgesaugt. Es entstehen leicht violett gefärbte, graue Kristalle, welche aus heißem Wasser mittels Tierkohle umkristallisiert werden können. Ausbeute: 12 g (12% d. Th.).

d) Aminoadrenalon. — Prinzip: Das Aminoadrenalon entsteht auf die Weise, daß zu einer konzentrierten Lösung des Monomethylamins eine alkoholische Suspension des Amino-chloraceto-brenzcatechins zugefügt wird.

50 g gepulvertes Amino-chloraceto-brenzcatechin wurden mit 25 ccm Alkohol verrieben, und unter Kühlen 100 ccm 40%ige Monomethylaminlösung zugefügt. Es wird gründlich geschüttelt und 10—12 Stunden lang stehengelassen. Das Aminoadrenalon scheidet in der Form von kristallischem Niederschlag aus. Es wird abgesaugt, mit kaltem Alkohol gewaschen und gereinigt (Auflösung in verdünnter Salzsäure, Fällung mittels NH_3, Waschen mit kaltem Wasser, Alkohol und Äther). Ausbeute: 25 g.

e) Aminoadrenalin. — Prinzip: Umbau des Aminoadrenalons zu Aminoadrenalin durch elektrolytische Reduktion. Die Ketongruppe wandelt sich zu einer sekundären Alkoholgruppe um.

10 g Aminoadrenalon wurden in 500 ccm 5%iger H_2SO_4-Lösung gelöst und durch Verwendung einer Diaphragma, Bleielektroden, 2,5 Volt und 0,25 Amp. bei 18° C Temperatur 24 Stunden lang reduziert. Der Schwefelsäureüberschuß wurde mit $BaCO_3$ niedergeschlagen und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Das entstandene braune, amorphe Pulver löst sich besser in Wasser, viel weniger in Alkohol und ist mit dem Sulfat des Methylaminoalkohols des Aminobrenzcatechins identisch. Aus diesem wird das Aminoadrenalin mit Alkalien niedergeschlagen. Ausbeute: 8 g (80% d. Th.).

f) Diazo-adrenalin. — 7 cmm HCl (s. G.: 1,18) wurden mit 7 ccm dest. Wasser verdünnt und 1 g Aminoadrenalin zugefügt. Man setzt in die Lösung Eis hinein, und unter Kühlen und Rühren werden 7 ccm Mol/10 $NaNO_2$ zugefügt.

g) Die Kuppelung mit Eiweiß erfolgte mittels der Paulyschen Reaktion. Wir benutzten zu diesem Zwecke nach Landsteiners Vor-

schriften (3) einfaches Pferde- und Rinderserum. Zu 200 ccm Serum wurden 200 ccm norm. Sodalösung, nachher unter Kühlen die Diazo-adrenalinlösung zugefügt. Die alkalische Lösung wird charakteristisch tief braun gefärbt. Das Adrenalin-azoprotein wurde nach kurzem Stehen mit norm. HCl-Lösung niedergeschlagen, filtriert, gewaschen und in norm. NaOH gelöst. Die Ausfällung wurde zweimal mit Alkohol wiederholt unter Lösung des Niederschlags mit norm. Lauge; es wurde endlich der nach HCl-Ausfällung gewonnene Niederschlag in kleinem Alkaliüberschuß gelöst. Die Lösung wurde gegen Phenolphthalein neutralisiert, auf 400 cmm nachgeschüttet, filtriert und nebst $^1/_2$%iger Phenolkonservierung im Eisschrank aufbewahrt.

2. Serologische Untersuchungen.

Die antigene Natur der mit Pferde- und Rinderserum hergestellten Adrenalin-azoproteine wurde serologisch untersucht. Es wurden mit den beiden Azoproteinen, sowie auch mit natürlichen Pferde- und Rindersera Kaninchen immunisiert und die Antikörperbildung mittels Präzipitations- und Komplementbindungsreaktionen untersucht. Die Immunisierung erfolgte durch intravenöse bzw. intraperitoneale Einspritzung von 1,5%igen Azoproteinlösungen. Tabelle 1 zeigt den Ablauf der Behandlungen.

Tabelle 1.

Antigen	Kaninchen Nr.	Tag der Behandlung						
		10. VII. ccm	11. VII. ccm	13. VII. ccm	15. VII. ccm	17. VII. ccm	19. VII. ccm	23. VII. ccm
Adrenalin-azoprotein mit Pferdeserumeiweiß intravenös	122	1	—	—	2	—	3	4
	123	1	—	—	2	—	3	4
Adrenalin-azoprotein mit Pferdeserumeiweiß intraperitoneal	109	4	4	4	4	4	—	—
	94	4	4	4	4	4	—	—
Adrenalin-azoprotein mit Rinderserumeiweiß intravenös	41	1	—	—	2	—	3	4
	126	1	—	—	2	—	3	4
Adrenalin-azoprotein mit Rinderserumeiweiß intraperitoneal	128	4	4	4	4	4	—	—
	130	4	4	4	4	4	—	—
Pferdeserum intravenös	131	1	—	—	2	—	3	4
intraperitoneal	132	4	4	4	4	4	—	—
Rinderserum intravenös	133	1	—	—	2	—	3	4
intraperitoneal	134	4	4	4	4	4	—	—

Die Ergebnisse der Präzipitations- und Komplementbindungsreaktionen sind in der Tabelle 2 zusammengefaßt.

Tabelle 2.

Immunsera	Nr.	Antigene							
		Adrenalin-azoprotein mit Pferdeserumeiweiß		Adrenalin-azoprotein mit Rinderserumeiweiß		Pferdeserum		Rinderserum	
		Präzipitation Titer-Verdünnung	Kompl. Bindung	Präzipitation Titer-Verdünnung	Kompl. Bindung	Präzipitation Titer-Verdünnung	Kompl. Bindung	Präzipitation Titer-Verdünnung	Kompl. Bindung
Hergestellt durch intravenöse bzw. intraperitoneale Verabreichung von Adrenalylpferdeazoprotein	122	2000	++	2000	++	0	0	0	0
	123	1000	++	1000	0	0	0	0	0
	109	1000	++	1000	++	0	0	0	0
	94	500	+++	500	+++	0	0	0	0
Hergestellt durch intravenöse bzw. intraperitoneale Verabreichung von Adrenalylrinderazoprotein	41	2000	+++	2000	+++	0	0	0	0
	126	1000	0	1000	0	0	0	0	0
	128	2000	+++	2000	+++	0	0	0	0
	130	5000	++	5000	++	0	0	0	0
Hergestellt durch intravenöse bzw. intraperitoneale Verabreichung von Pferdeserum	131	0	0	0	0	10 000	+++	0	0
	132	0	0	0	0	40 000	+++	0	0
Hergestellt durch intravenöse bzw. intraperitoneale Verabreichung von Rinderserum	133	0	0	0	0	0	0	15 000	+++
	134	0	0	0	0	0	0	20 000	+++

Wie es in der Tabelle 2 ersichtlich ist, reagierten die mit Adrenalyl-pferdeserumeiweiß hergestellten Kaninchenimmunsera sowohl mit Adrenalin-pferdeazoprotein als auch mit Adrenalinrinderazoprotein; sie reagierten aber weder mit natürlichem Pferde - noch mit natürlichem Rinderserum-eiweiß. Ebenso: die mit Adrenalylrinderserumeiweiß hergestellten Immun-sera reagierten sowohl mit Adrenalinrinderazoprotein wie auch mit Adrenalinpferdeazoprotein, sie reagierten aber weder mit natürlichem Rinder- noch mit natürlichem Pferdeserumeiweiß. Diese Versuchsergebnisse weisen also darauf hin, daß sich die Eiweißverbindungen des Adrenalins als chemospezifische Antigene verhalten, in dem Sinne, daß die Spezifität der entstandenen Antikörper durch die Adrenalylgruppe des injizierten Azoproteins bestimmt wird.

Die Tatsache, daß mittels Adrenalin-azoproteine spezifische Adrenalin-immunsera hergestellt werden können, weist auf die Möglichkeit hin, daß dieselben Antikörper — ähnlich wie unsere vorhergehend beschriebenen Thyreoglobulin- bzw. Thyroxinimmunsera — nicht nur in serologischem sondern auch in physiologischem Sinne eine antagonistische Wirkung gegen das Hormon des Nebennierenmarks ausüben. Über die physiologischen Wirkungen dieses Antiadrenalins wird in einer nächsten Arbeit berichtet.

Zusammenfassung.

Nachdem das Thyreoglobulin eine natürliche Eiweißverbindung des Thyroxins und als solche ein chemospezifisches Antigen darstellt, wo das Thyroxin neben dem Eiweißschlepper die Rolle der spezifischen Gruppe spielt — lag der Gedanke nahe, daß ähnliche Antigenwirkungen auch durch die Eiweißverbindungen anderer Hormone erzeugt werden können. Die synthetische Herstellung der Eiweißverbindungen des Adrenalins wurde in folgender Weise durchgeführt: Nitrierung des Brenzcatechins in Äther mittels konz. Salpetersäure. Das derart gewonnene Nitrobrenzcatechin wurde mit St und HCl zu Aminobrenzcatechin reduziert. Aus dem Amino-brenzcatechin kann — durch die Stolzsche Adrenalinsynthese und durch Kochen mit Chlorazetylchlorid — Amino-chloraceto-brenzcatechin her-gestellt werden, welche mit Monomethylamin und Kühlen Aminoadrenalon gibt. Das Aminoadrenalon wurde auf elektrolytischem Wege zu Amino-adrenalin reduziert, welches als ein primäres, aromatisches Amin diazotiert und (mittels der Paulyschen Reaktion) mit Serumeiweiß gekuppelt werden kann.

Die Immunisierungsversuche mittels Adrenalyl-azoproteine weisen darauf hin, daß sich die Eiweißverbindungen des Adrenalins als chemo-spezifische Antigene verhalten in dem Sinne, daß die Spezifität der ent-standenen Antikörper durch die Adrenalylgruppe des injizierten Azo-proteins bestimmt wird.

Literatur.

1) Went, S., K. Piribauer u. L. Kesztyüs: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 312 (1939). — 2) Stolz, Fr.: Ber. dtsch. chem. Ges. **37**, 4149 (1904). — 3) Landsteiner, K.: Biochem. Z. **86**, 343 (1918).

Aus dem Physiologischen und Allgemeinen Pathologischen Institut der Universität Debrecen.

Einfluß der Monojodessigsäure auf die Blutzucker- und Blutmilchsäurewerte von Hunden.

Von

B. Rex-Kiss und **B. Zsadon.**

(Eingegangen am 9. August 1939.)

Bezüglich der Wirkung von Monojodessigsäure auf die Zucker- und Milchsäurekonzentration des Blutes sind in der Literatur nur spärliche und einander gewissermaßen widersprechende Angaben zu finden. — Marenzi und Mundt (1. 2) stellten fest, daß gewisse Monojodessigsäurekonzentrationen die spontane Glykolyse im extravasalen Blute des Hundes zu verhindern fähig sind. Nitzescu (3) führte ähnliche Untersuchungen mit Monobromessigsäure durch und beobachtete ebenfalls eine hochgradige Hemmung der Glykolyse. Tanaka (4) injizierte in Kaninchen 0,16 g/kg Monojodessigsäure und fand während des Krampfstadiums im Blute und in den Muskeln stark erhöhte Zucker- und Milchsäurewerte. Beiderseitige Splanchnikotomie hinderte die Zunahme der Blutzucker- und Blutmilchsäurekonzentration, wogegen die Milchsäurewerte der Muskeln unverändert erhöht geblieben sind. Über ähnliche Versuchsresultate berichtet auch Nishita (5). Hikiji (6) behandelte Kaninchen 6 Tage lang täglich mit 15—30 mg/kg Na-monobromacetat. Er stellte fest, daß aus den Muskeln der behandelten Tiere das Glykogen beinahe völlig verschwunden war, der Milchsäuregehalt war dagegen kaum verändert. Parallel mit dem Verschwinden des Glykogens war der Kreatingehalt der Muskeln stark erhöht, so daß eine Kreatinurie auftrat. Irmler (7) beobachtete nach Monobromessigsäurebehandlung eine Erhöhung der Blutzuckerwerte, wogegen die Blutmilchsäurekonzentration unverändert blieb oder eine minimale Senkung zeigte. Nach Neuss (8) wird der Blutzucker und die Blutmilchsäure von Kaninchen nach Monojodessigsäurevergiftung anfangs erhöht, später aber niedriger als die Ausgangswerte.

Unsere eigenen Versuche waren an Hunden durchgeführt. Die Tiere erhielten 1—2 cg/kg Monojodessigsäure intravenös. Diese Quantität war so ausgewählt, daß sich nach deren Verabreichung keine Vergiftungserscheinungen manifestierten, das Verhalten der Versuchstiere blieb objektiv völlig normal. Die Tiere hungerten 24 Stunden lang vor dem Versuche und befanden sich mehr oder weniger in vollkommener körperlicher Ruhe. Die Monojodessigsäure wurde in einer 10%igen, gegen Lackmus mit Natriumhydrocarbonat schwach alkalisierten Lösung angewendet.

Die Blutzucker- und Blutmilchsäurebestimmungen waren vor der Monojodessigsäureeinspritzung und nachher 8—10 Stunden lang stündlich durchgeführt. Die erste Blutentnahme erfolgte erst 2 Stunden nach der Mje-Injektion, nachdem unsere vorigen Untersuchungen darauf hingewiesen haben, daß die Verschiebung der Blutzucker- und Blutmilchsäurewerte erst nach 1—$1^1/_2$ Stunden beginnt.

Ein Teil der Blutzuckerbestimmungen erfolgte parallel mit der Methode von Hagedorn und Jensen und mit der von Solomos (9). Die weiteren Bestimmungen waren ausschließlich durch die Solomossche Methode durchgeführt. Die Bestimmung der Blutmilchsäure erfolgte nach der Methode von Friedemann-Cotonio-Schaffer (10). Am Anfang dieser Untersuchungen haben wir uns nur auf die Blutzuckerbestimmungen beschränkt. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in der Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1*.

	Vor Mje-Einspritzung	Dose g/kg	Nach Mje-Einspritzung										Abnahme %
			1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	7 h	8 h	9 h	24 h	
1	103	0,025	100	65	64	70	67	67	67	—	—	89	37,9
2	104	0,025	89	78	71	—	89	89	—	88	87	93	31,8
3	120	0,020	120	111	106	90	104	—	113	113	—	—	25,0
4	109	0,015	97	93	98	98	105	—	107	107,5	—	—	14,7
5	120	0,015	111	111	104	98	105	—	113	—	113	—	18,4

* Werte in mg %.

Wie es aus der Tabelle 1 ersichtlich ist, sind die Blutzuckerwerte auf Mje-Injektionen bedeutend herabgesetzt. Die Abnahme der Blutzuckerkonzentration geht parallel mit der Größe der verabreichten Mje-Dosen. 2—4 Stunden nach der Injektion erfolgt wieder eine langsame Zunahme der Blutzuckerkonzentration, in einigen Fällen bis zu den Ausgangswerten.

In der zweiten Versuchsreihe haben wir neben Blutzucker auch Blutmilchsäure bestimmt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in der Tabelle 2 dargestellt.

Die Werte der Tabelle 2 zeigen, daß nach Monojodessigsäureinjektion nicht nur die Blutzucker-, sondern auch die Blutmilchsäurekonzentration stark abnimmt. Ein Zusammenhang zwischen der eingeführten Mje-Menge und der Größe der Abnahme der Blutmilchsäurekonzentration kann insofern festgestellt werden, daß nach der Injektion größerer Mje-Dosen die Dauer der Milchsäureabnahme verlängert wird.

Die Tatsache, daß nach Mje-Einspritzung die Milchsäurewerte im Blute stark abnahmen, ist auf Grund der glykolysehemmenden Wirkung der Monojodessigsäure leicht zu erklären. Die Abnahme der Blutzuckerkonzentration läßt sich dagegen schwerer erklären. Einige Beobachtungen weisen auf die Möglichkeit hin, daß diese Wirkung der Monojodessigsäure

Tabelle 2*.

		Vor Mje-Einspritzung	Dose g/kg	Nach Mje-Einspritzung 2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	8 h	10 h	Abnahme %
6	Blutzucker.....	98,2	0,020	92,4	90,0	91,4	91,4	99,0	97,2	—	8,4
	Blutmilchsäure..	28,1		26,2	25,7	24,7	21,7	20,0	20,0	—	28,8
7	Blutzucker.....	113,3	0,020	102,4	100,0	101,2	104,3	109,0	110,4	—	11,8
	Blutmilchsäure..	24,7		23,7	21,7	19,2	16,8	15,8	14,8		40,0
8	Blutzucker.....	111,8	0,020	103,0	98,8	100,6	102,4	105,6	105,0	106,0	11,7
	Blutmilchsäure..	17,5		24,1	15,8	14,8	15,2	13,8	11,0	10,4	40,0
9	Blutzucker.....	113,3	0,015	106,9	98,8	106,2	109,6	110,4	113,0	–	12,8
	Blutmilchsäure..	23,7		19,2	13,7	16,8	19,2	20,0	20,3	—	42,8
10	Blutzucker.....	109,7	0,010	101,2	97,1	98,8	98,8	98,8	100,6	101,2	11,5
	Blutmilchsäure..	19,0		14,0	14,0	14,2	14,0	15,1	15,1	14,9	26,3
11	Blutzucker.....	101,8	0,010	99,4	99,4	94,4	96,0	100,0	99,8	101,5	7,3
	Blutmilchsäure..	18,7		17,6	16,5	14,3	10,9	11,8	12,8	13,8	41,2
12	Blutzucker.....	105,0		103,3	—	100,6	—	102,0	101,8	—	4,2
	Blutmilchsäure..	15,3		13,8	—	16,8	—	14,3	15,8	—	9,8

* Werte in mg %

durch die Vermittlung des vegetativen Nervensystems zustande kommt. Dobrowolski (11) beobachtete z. B. eine Blutdrucksenkung an Hunden nach Monojodessigsäureeinspritzung. Wir selbst untersuchten die Wirkung der Mje an isolierten Froschherzen und beobachteten, daß dieser Stoff auch in höheren (1 : 50000) Verdünnungen eine starke negativ inotrope Wirkung entfaltet; diese Wirkung kann mit Atropin nicht gehemmt werden, durch Adrenalin oder durch Auswaschen des Herzens mit Ringerlösung wird sie aber aufgehoben. Diese Beobachtungen scheinen also für einen sympathicushemmenden Einfluß der Monojodessigsäure zu sprechen. Eine andere Erklärung wäre, daß durch die intravenös eingeführte Monojodessigsäure die Leber vergiftet, und deren glykogenmobilisierende Funktion gestört wird.

Zusammenfassung.

Die Blutzucker- und Blutmilchsäurekonzentration von Hunden nimmt nach intravenöser Verabreichung von Monojodessigsäure stark ab.

Literatur.

1) Marenzi, A. D., u. W. A. Mundt: C. r. Soc. Biol. **108**, 127 (1931). — 2) Marenzi, A. D., u. W. A. Mundt: Rev. Soc. argent. Biol. **7**, 244 (1931). — 3) Nitzescu, I. I.: C. r. Soc. Biol. **110**, 1144 (1932). — 4) Tanaka, Jun: Mitt. med. Akad. Kioto **7**, 665 (1933). — 5) Nishita, Yoshio: Jap. J. med. Sci., Trans. IV., Pharmacol. **8**, 117 (1934). — 6) Hikiji, Kogoro: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **168**, 1 (1932). — 7) Irmler, E.: Münster i. W., Diss. 1931, S. 11. — 8) Neuss, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **160**, 551 (1931). — 9) Solomos, G. I.: Bull. Soc. Chem. biol. (Fr.) **17**, 1465 (1935). — 10) Friedemann, Th. E., M. Cotonio u. P. A. Shaffer: J. biol. Chem. (Am.) **100**, 291 (1933). — 11) Dobrowolski, N.: Arch. internat. Pharmacodynam. **45**, 428 (1933).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin.

Entzündungswidrige Stoffe im Kamillenöl.

Von

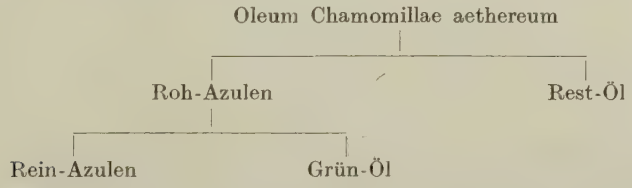
Wolfgang Albath.

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. August 1939.)

Wie bereits bei Mitteilung der Ergebnisse über die entzündungswidrige Wirkung des Rein-Azulens aus Matricaria Chamomilla L. erwähnt wurde [1], fällt bei der Gewinnung des Rein-Azulens noch ein Anteil gelber und grüner ätherischer Öle an, die zwischen dem „Rein-Azulen" und dem „Rest-Öl" stehen. Sie werden nämlich ebenfalls durch Ferricyanwasserstoff im „Roh-Azulen" gefällt, jedoch bei der Adsorptionsanalyse vom „Rein-Azulen" abgetrennt. Ich nenne diese Fraktion kurz „Grünöl".

Zur besseren Übersicht über die geschilderten Anteile diene folgende schematische Darstellung:



Das Rein-Azulen war in dem verarbeiteten Kamillenöl in einer Menge von annähernd 1% enthalten, das Grünöl zu etwa 0,05% [2].

Es war noch zu prüfen, ob neben dem Rein-Azulen auch das Grünöl eine entzündungswidrige Wirkung entfaltet. Hierfür zog ich diesmal nur die optische Messung des Entzündungsablaufes an der menschlichen Haut heran, wie sie bei der Prüfung des Rein-Azulens beschrieben wurde. Die Bestrahlungsdauer mit der Ultravioletlampe betrug 10 Minuten bei einer Entfernung von 20 cm. Die Behandlung erfolgte mit Läppchen, die mit dem zu prüfenden Öl getränkt und alle 24 Stunden gewechselt wurden.

Da es schien, als ob das Rein-Azulen nach längerer Aufbewahrung an Wirksamkeit nachlasse, wurde vorher ein Rein-Azulen älteren Datums (nach etwa 5 Monate dauernder Aufbewahrung) mit einem Rein-Azulen frischer Darstellung verglichen. Die Präparate erhielt ich wieder von der Chemisch-Pharmazeutischen Aktiengesellschaft Bad Homburg, Frankfurt a. M.

[1] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 393, 1939. — [2] Über Analysen zahlreicher Proben Kamillenöl vgl. Kaiser u. Franz: Deutsche Apothekerztg. **1938**, S. 1375; von Fluidextrakten und dgl., ebenda **1939**, S. 882.

Die auf Kurve 1 dargestellten Ergebnisse der photometrischen Messungen der Haut (Versuchsperson A.) lassen jedoch den Schluß ziehen, daß ein sicherer Unterschied zwischen dem frischen und älteren Azulen nicht besteht.

Auf Kurve 2 finden sich die Ergebnisse meiner Messungen bei einem Vergleich von älterem Rein-Azulen mit Restöl und Olivenöl als Kontrolle

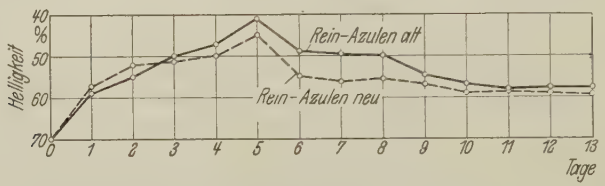


Abb. 1. Die Ordinate bedeutet (reziprok) die gemessene Helligkeit der Haut in % einer unter gleichen Bedingungen gemessenen Berytweißplatte. Die Abnahme der Helligkeit (Höhe der Ordinate) entspricht dem Grad der entzündlichen Erscheinungen (Hyperämie und Pigmentation).

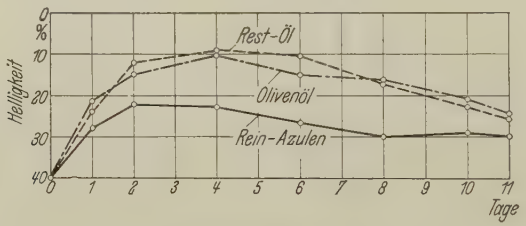


Abb. 2 (wie Abb. 1).

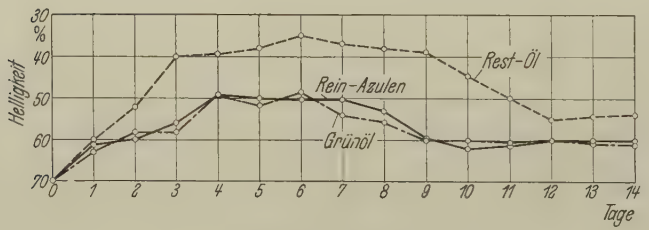


Abb. 3 (wie Abb. 1).

(Versuchsperson Sch.). Hier zeigt sich erneut, daß das Rein-Azulen seine entzündungswidrige Wirkung bei der Aufbewahrung nicht eingebüßt hat. Auch bestätigte sich wiederum, daß das Restöl von einer echten entzündungshemmenden Wirkung frei ist.

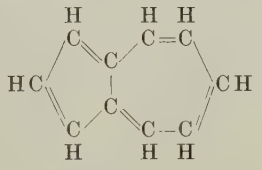
In dem Versuch der Kurve 3 (Versuchsperson A.) wurde nun „Grünöl" mit Restöl und Rein-Azulen verglichen; die Ergebnisse lassen ersehen, daß das Grünöl genau wie das Rein-Azulen eine entzündungswidrige Wirkung entfaltet.

In dem „Grünöl" liegt also ein weiterer entzündungswidriger Wirkstoff vor; für die Wirkung der Kamille (Matricaria Chamomilla L.) tritt es aller-

dings quantitativ hinter dem Rein-Azulen zurück, da gegenüber diesem seine Menge im Kamillenöl nur ein Zehntel bis Zwanzigstel beträgt.

Es darf vermutet werden, daß die grüne Substanz des Kamillenöls identisch oder nahe verwandt ist mit dem von Willstaedt[3] aus dem Pilz Lactarius deliciosus L. (dem echten Reizker) in kristallisierter Form isolierten und analysierten „Verdazulen" von der Formel $C_{15}H_{16}$. Es kommt in den Pilzen neben dem blauen „Laktarazulen" ($C_{15}H_{18}$) vor und verhält sich bei der chromatographischen Analyse genau wie die grüne Substanz des Kamillenöls gegen dessen Azulen (Chamazulen). Die nahe chemische Beziehung zwischen dem Verdazulen und dem Laktarazulen ist nicht nur durch die Bruttoformel, sondern auch durch die Identität von 3 Absorptionsbanden gestützt. Übrigens fand Willstaedt auch die Absorptionsspektra von Laktarazulen und Chamazulen völlig übereinstimmend.

Als identisch darf man die gefärbten Kohlenwasserstoffe aus Reizker und Kamille nicht ohne weiteres ansehen: Nach Untersuchungen von Pfau und Plattner[4] gibt es verschiedene Azulene von der Formel $C_{15}H_{18}$. Es handelt sich um einen kondensierten Doppelring mit 5 und 7 Gliedern und 5 ungesättigten Bindungen ($C_{10}H_8$, vgl. Strukturformelbild),



„Azulen" (Grundskelet der Azulene).

dem an verschiedenen Stellen zwei Methyl- und eine Isopropylgruppe angeheftet sein können.

Dennoch wird auch schon bei unserem heutigen Wissen aus der Analogie mit dem Reizker auch die pharmakologische Übereinstimmung zwischen dem grünen und blauen Farbstoff des Öles der Matricaria Chamomilla gut verständlich.

Zusammenfassung.

Das Rein-Azulen büßt nach längerer Aufbewahrung nichts an seiner entzündungswidrigen Wirksamkeit ein. Das im Öl von Matricaria Chamomilla in weitaus geringerer Menge enthaltene „Grünöl" wirkt ebenso entzündungswidrig wie das Rein-Azulen. Gute Gründe sprechen dafür, daß es sich um eine dem Azulen nächst verwandte, doch wasserstoffärmere Verbindung (oder mehrere solche?) handelt. Doch behält wegen seiner größeren Menge nach wie vor das Azulen in der echten Kamille die größte therapeutische Bedeutung.

[3] Willstaedt, Harry: Ber. dtsch. chem. Ges. **69**, 997, 1936; Atti del X. Congresso internazionale di Chimica Rom **3**, 390 (1938). — [4] Pfau u. Plattner: Helv. chim. acta **19**, 858, 1936; **20**, 224 (1937); **22**, 202 (1939).

Aus dem Pharmakologischen Institute der Universität in Innsbruck.

Zentrale Wirkungen des Veratrins.

Von

H. Richter und H. Thoma.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 30. Juli 1939.)

Das Veratrin ist ein zentrales Reizgift; das Erbrechen, die Bradycardie, die Krämpfe, die Veränderungen der Atmung und der Körpertemperatur, die Blutdrucksteigerung am vagotomierten Tier u. a. gelten als Zeichen einer unmittelbaren Erregung der betreffenden Zentren[1]. Jarisch und Richter[2] bestritten jedoch eine direkte Reizung des Vaguszentrums und nahmen eine mittelbare durch Reflexe an, die vom Herzen und unter Umständen vom Carotissinus ausgehen; auch für die Blutdrucksteigerung am vagotomierten Tiere erwogen sie eine reflektorische Entstehung.

Zur Klärung dieser Fragen versuchten wir das Veratrin unmittelbar zentral zur Wirkung zu bringen und beschritten hierzu zwei Wege: die Injektion in die A. vertebralis und die in den vierten Ventrikel.

Injektion in die A. vertebralis.

Methodik. Katzen in Chloralosenarkose (0,05 g/kg Chloralose mit 0,25 g Urethan intramuskulär). Blutdruckkanüle in der rechten Carotis, Sternalende der rechten ersten Rippe reseziert. In die rechte A. subclavia wurde zentral eine Kanüle eingebunden und alle Äste mit Ausnahme der A. vertebralis wurden ligiert; herzwärts von deren Ursprung wurde um die Subclavia eine Schlinge gelegt, die während der Injektion zugezogen werden konnte; es wurden stets 0,5 ccm innerhalb von 5 Sekunden injiziert. Der rechte Carotissinus wurde entfernt, um zu verhindern, daß etwa aus der Carotis interna zurückströmendes Veratrin von dort aus reflektorisch wirke. Zweite Injektionskanüle in der linken V. jugularis. Veratrinum hydrochloricum Merck.

Wir injizierten die gleiche Menge Veratrin zuerst durch die Vene in den allgemeinen Kreislauf und danach durch die Vertebralarterie gegen das Gehirn. Beim Herantasten an die Schwellendosen zeigte sich folgendes (Abb. 1): 5 γ venös wirkungslos, zentral Blutdrucksteigerung von 10 mm mit leichter Beschleunigung; 10 γ venös deutliche Bradycardie mit Blutdrucksenkung, zentral Blutdrucksteigerung 16 mm mit Beschleunigung; 20 γ venös stärkere Bradycardie und stärkere Blutdrucksenkung, zentral

[1] Bezold, A. v., u. L. Hirt: Unters. a. d. physiol. Laboratorium in Würzburg **1**, 95 (1867); Pilcher, J. D., u. T. Sollmann: J. Pharmacol. (Am.) **7**, 295 (1915); Meyer, H. H., u. R. Gottlieb: Exper. Pharmakol. 1933, S. 283; Sollmann, T.: Manual Pharmacol. 1936, S. 536. — [2] Jarisch, A., u. H. Richter: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **193**, 347, 356 (1939).

Blutdrucksteigerung 14 mm; 50 γ venös starke Bradycardie mit starkem Drucksturz, zentral ebenfalls Drucksturz, aber schwächer und von kürzerer Dauer und mit kaum geänderter Frequenz.

Niemals sahen wir bei der Injektion von Schwellendosen in die A. vertebralis Pulsverlangsamung oder Blutdrucksenkung; immer war die

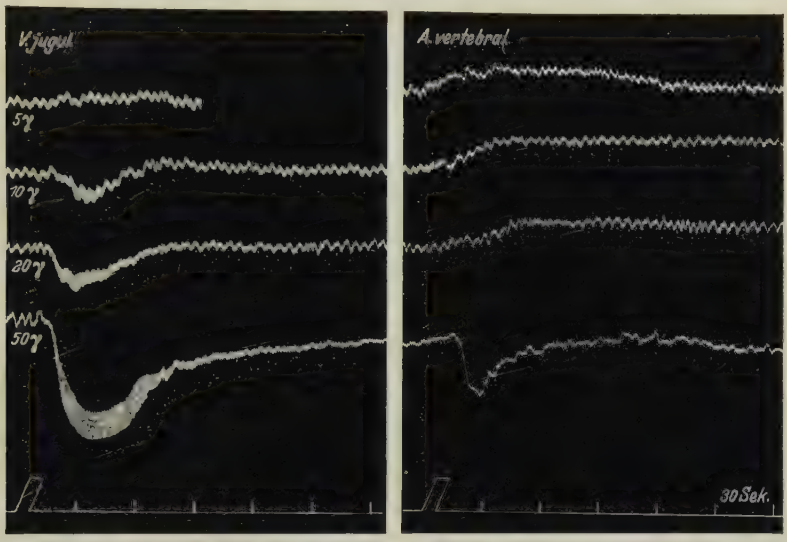


Abb. 1. Katze, 2500 g, in Chloralosenarkose; Injektion von 5, 10, 20 und 50 γ in die V. jugularis (linke Reihe) und in die A. vertebralis (rechte Reihe). Ausgangsblutdruck zwischen 95 und 105 mm Hg.

erste erzielbare Wirkung eine Blutdrucksteigerung mit mehr oder minder deutlicher Pulsbeschleunigung; auch das 3—4fache davon wirkte zentral injiziert in gleicher Weise, rief jedoch vom allgemeinen Kreislauf aus Pulsverlangsamung mit Blutdrucksenkung hervor; wurden noch größere Mengen gegen die Zentren injiziert, dann kam es zu Mischeffekten, weil die aus dem Kopfe zurückkehrenden Veratrinmengen ausreichen, die Reflexmechanismen im Herzen zu erregen. Dabei kann, wie die Abb. 2 zeigt, auch eine beträchtliche Pulsverlangsamung eintreten; bei dieser gegen Ende eines Versuchs ausgeführten Injektion war der Kreislauf bereits geschädigt (Blutdruck 70 mm) und deshalb die Kreislaufzeit verlängert; daher hatte die reflektorische Wirkung eine so beträchtliche Latenz, daß vorher die zentrale zur Geltung kommen konnte.

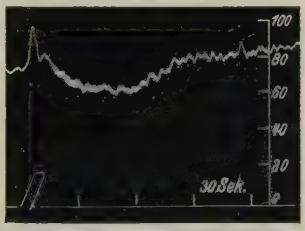


Abb. 2. Katze, 1800 g, in Chloralosenarkose; Injektion von 50 γ Veratrin in die A. vertebralis; auf eine kurze zentral bedingte Blutdrucksteigerung folgt die reflektorisch-depressorische Wirkung mit Pulsverlangsamung und Blutdrucksenkung.

Daß bei der Injektion größerer Mengen von Veratrin in die A. vertebralis die Bradycardie auch ausbleiben kann wie in Abb. 1, dürfte wohl daher kommen, daß infolge der starken Sympathicuserregung (s. später) ein heterotoper Herzrhythmus einsetzt, wie er bei gleichzeitiger Erregung von Vagus und Accelerans beobachtet werden kann.

Die Versuche zeigen, daß das Veratrin vom Gehirnkreislaufe aus weder Pulsverlangsamung noch Blutdrucksenkung hervorruft, daß somit das Vaguszentrum nicht unmittelbar auf das Veratrin anspricht; hingegen erregt das Veratrin die pressorischen Zentralapparate.

Injektion in den vierten Ventrikel.

Hierzu wurde bei Katzen in Chloralosenarkose die Membrana occipitalis freigelegt und quer gespalten; das Veratrin wurde, in Ringer gelöst, in Mengen von 0,1—0,2 ccm durch eine in den vierten Ventrikel vorgeschobene stumpfe Kanüle injiziert; dabei läuft ein Teil der injizierten Flüssigkeit gleich wieder ab und es bleibt nur soviel zurück, als der Ventrikel faßt. Wir wählten diesen Weg um zu verhindern, daß das Veratrin ins Diencephalon aufsteigt.

Die Ergebnisse entsprachen den bei der Injektion in den Gehirnkreislauf erhaltenen. 2 γ Veratrin in 0,1 ccm war die eben wirksame Menge und erzeugte Blutdrucksteigerung mit Pulsbeschleunigung, größere Mengen wirkten stärker, doch war der Grad der Wirkung in den einzelnen Versuchen verschieden, was in Anbetracht der wenig exakten Applikationsweise nicht überrascht. Die Drucksteigerung setzt wenige Sekunden nach der Injektion ein, erreicht ihren Höhepunkt nach 1—3 Minuten und hält bis zu 30 Minuten an. Einmal injizierten wir mit einer feinen Nadel 1 γ Veratrin in den „pressor point" von Ranson und Billingsley[3] etwa 2 mm tief und erhielten eine brutale Blutdrucksteigerung von 120 mm auf 255 mm innerhalb von 30 Sekunden.

Da die Injektion von Reizstoffen in den vierten Ventrikel nach Dixon[4] die adrenosekretorischen Apparate erregt, wiederholten wir die Versuche auch an Tieren, denen die Nebennieren entfernt worden waren, erhielten jedoch völlig wechselnde Ergebnisse (Abb. 3).

Kombiniert man die Injektion in den vierten Ventrikel mit der Injektion in die Halsvene, dann bekommt man Mischeffekte der zentral pressorischen und der reflektorisch depressorischen Wirkung. Wurden z. B. 4—5 γ in den Ventrikel und 1 Minute später 50 γ intravenös injiziert, dann überwand der Reflex die zentrale Wirkung und es traten Blutdrucksenkung und Bradycardie ein; wurden hingegen auf 10 γ ventrikulär 100 γ intravenös gegeben (Abb. 4), dann bewirkte der Reflex nur eine kurze Einsenkung mit Bradycardie im Verlaufe der zentralen Drucksteigerung. Dies

---

[3] Ranson, S. W., u. P. R. Billingsley: Amer. J. Physiol. **41**, 85 (1916). — [4] Dixon, W. E.: Minerva Med. (It.) 1928, N. 23, zit. nach Hill, E. F., u. A. D. MacDonald: J. Pharmacol (Am.) **47**, 151 (1933).

entspricht der Beobachtung, daß auch die Erregung der vasomotorischen Zentren durch die Erstickung „stärker" ist als depressorische Reflexe [5].

Bei derartigen Kombinationsversuchen zeigt sich, daß das Veratrin auch zentrallähmende Wirkungen hat. Durch die Injektion in den Ven-

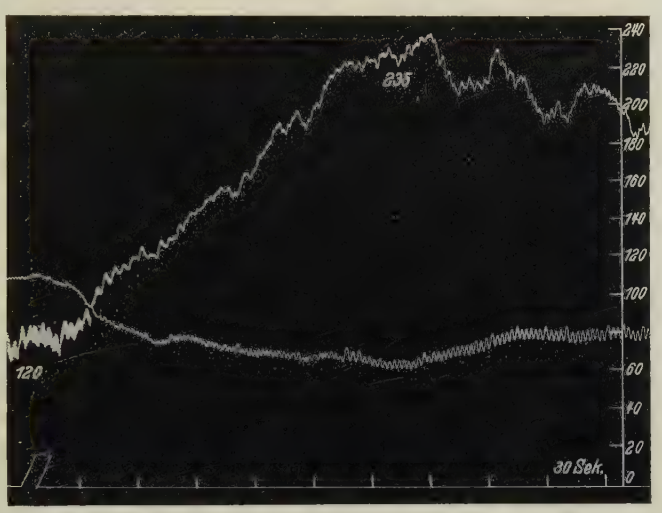


Abb. 3. Verschiedene Wirkungen einer Injektion von 10 γ Veratrin in den vierten Ventrikel bei 2 nebennierenlosen Katzen in Chloralosenarkose. 120 und 235 sind Schlagfrequenzen.

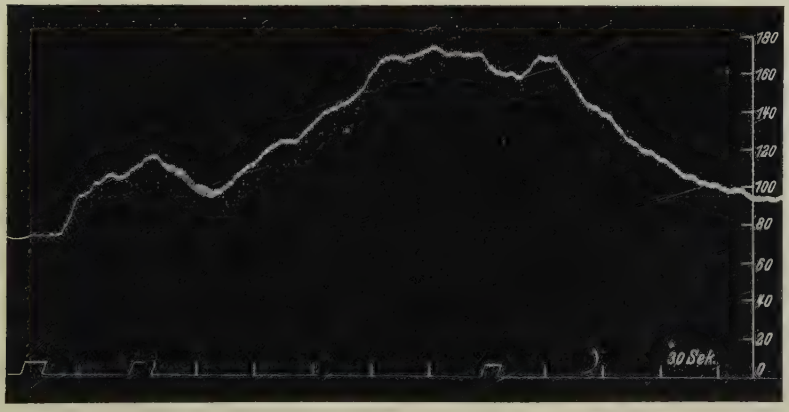


Abb. 4. Katze, 2000 g, in Chloralosenarkose. Beim ersten Zeichen werden 10 γ Veratrin in den vierten Ventrikel und beim zweiten und dritten Zeichen 100 γ in die V. jugularis injiziert.

trikel wird die reflektorisch-depressorische Wirkung später nachfolgender intravenöser Injektionen bald abgeschwächt und schließlich völlig unter-

[5] Bayliss, W. M.: J. Physiol. (Brit.) **14**, 303 (1893); Velden, R. v. d.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **55**, 223 (1906); Jarisch, A., u. H. Richter: Ebenda **193**, 353 (1939); Faßhauer, W.: Klin. Wschr. **1938**, S. 260.

drückt, diese wirken dann drucksteigernd, wie nach Ausschaltung des Halsvagus. Daraus folgt, daß die Abschwächung der Blutdrucksenkung und der Pulsverlangsamung, die nach der wiederholten intravenösen Injektion größerer Veratrindosen beobachtet wird [2], zentral bedingt sein kann. - Aber auch die Drucksteigerung nach Injektion in den vierten Ventrikel ist nicht beliebig oft reproduzierbar; sie fällt bei der Wiederholung geringer aus und schließlich werden sogar Milligrammdosen unwirksam; dann sinkt der Blutdruck überhaupt auf ein tieferes Niveau und es tritt die von Bezold und Hirt [1] beschriebene Vasomotorenlähmung ein.

An sonstigen Folgen der Injektion größerer Veratrinmengen in den vierten Ventrikel wurden noch Verstärkung der Atmung sowie gelegentlich Muskelzuckungen beobachtet; ferner trat Zucker im Harn auf (chemischer Zuckerstich).

Einfluß der suboccipitalen Injektion von Veratrin auf den Blutzucker des Kaninchens.

Um über die zentrale Wirkung des Veratrins auf den Blutzucker näheres zu erfahren, injizierten wir es bei Kaninchen nach den Angaben von Light, Bishop und Kendall [6] suboccipital in die Cisterna magna. Wir erhielten danach beträchtliche und stundenlang anhaltende Blutzuckersteigerungen; es ist aber mit diesen Versuchen nicht viel anzufangen, weil schon die Grenzdosen am nichtnarkotisierten Tiere Erregungserscheinungen, wie Muskelzuckungen, steifen Gang, Unruhe und Atmungsstörungen hervorrufen.

Bei diesen Versuchen stießen wir auf eine unerwartete Erscheinung: 40—50 γ Veratrin erzeugen beim Kaninchen suboccipital injiziert ein binnen 3—5 Minuten tödliches Lungenödem, darüber soll gesondert berichtet werden.

Besprechung der Ergebnisse.

Die Injektion in die zentralen Liquorräume wurde vielfach geübt, um über zentrale Wirkungen Näheres zu erfahren und sie von peripheren zu trennen. Man muß sich aber darüber im klaren sein, daß das Verfahren doch recht roh ist, weil man eigentlich nicht recht weiß, was man dabei tut. Schon die Frage, wohin überall der injizierte Stoff gelangt und wie tief er in die nervöse Substanz eindringt, ist, wie die von Spatz [7] aufgezeigten Schwierigkeiten lehren, kaum zu beantworten. Durch die Injektion in die Liquorräume hofft man die unmittelbar angrenzenden Zentren elektiv beeinflussen zu können. Wer sich ein Zentrum nach Art eines Knopfes vorstellt, dem nur die Aufschrift fehlt, mag sich bei solchen Versuchen etwas denken; wer aber erwägt, daß anatomisch festgelegte Kerngebiete

[6] Light, R. U., C. C. Bishop u. L. G. Kendall: J. Pharmacol. (Am.) **47**, 37 (1933). — [7] Spatz, H.: Arch. Psychiatr. (D.) **101**, 267 (1934).

noch lange nicht Zentren sind und daß der funktionelle Zentrenbegriff zu- und abführende Bahnen mit Schalteinrichtungen für wechselseitige Hemmungen und Förderungen mit einbezieht, der wird die Hoffnung, durch Injektion in die Liquorräume Wirkungen lokalisieren zu können, alsbald sinken lassen.

Aber selbst wenn es umschriebene, dem klassischen Zentrenbegriffe entsprechende Bezirke wirklich gäbe, besteht für unsere Frage die Schwierigkeit, daß nicht bekannt ist, wo eigentlich das Herzhemmungs- und das Vasomotorenzentrum liegt[8]; lokalisiert man das Herzhemmungszentrum in dem in der Tiefe liegenden Nucleus ambiguus, dann darf bei unserer Versuchsanordnung gar keine Bradycardie erwartet werden, selbst wenn es für das Veratrin empfindlich wäre. Ferner läßt sich auch nicht ermessen, ob und wieweit das Veratrin auf seinem Wege zu den „Zentren" nicht erst die zugehörigen Leitungsbahnen erregt oder unterbricht, denn es wirkt auf die Leitung im Nerven nach Graham und Gasser[9] je nach Konzentration und Einwirkungsdauer verschieden.

Darum sind die Ergebnisse unserer Versuche mit der Injektion in den vierten Ventrikel nur beschränkt verwertbar. Hingegen sind die Versuche mit der Injektion in den Gehirnkreislauf entscheidend; denn wenn von dort aus die kleinsten überhaupt wirksamen Mengen, sowie das 3—4fache davon keine Pulsverlangsamung, sondern Blutdrucksteigerung mit Pulsbeschleunigung erzeugen, dann heißt dies eben, daß das Veratrin vom Blutwege aus — und nur darauf kommt es bei unserer Fragestellung an — das Herzhemmungszentrum nicht erregt.

Die Versuche mit Injektion des Veratrins in den vierten Ventrikel zeigen, daß hierbei die Zeichen einer starken Sympathicuserregung auftreten. Dies ist keine spezifische Wirkung, denn man sah Blutdrucksteigerungen, wenn dort Ammonium-, Kalium- und Phosphationen[10], Säure[11, 12], hypertonische Salzlösungen, Sabadin (ein schwach wirksames Alkaloid aus der Veratringruppe), Histamin und Yohimbin[12], Azetylcholin[13], Ergotamin, Hydrastinin und Digitalisglykoside[14] injiziert wurden und wir können diese Liste noch um das Aconitin vermehren, das sich in orientierenden Versuchen ähnlich wirksam wie das Veratrin erwies. Erwähnt sei, daß Mercier und Delphaut[14] bei der Injektion von Digitalisglykosiden auch eine Hemmung der Darmbewegung beobachteten.

---

[8] Müller, L. R.: Lebensnerven 3. Aufl., S. 79; Miller, F. R. u. J. T. Bowman: Amer. J. Physiol. **39**, 149 (1916); Scott, J. M. u. F. Roberts: J. Physiol. **58**, 168 (1923). — [9] Graham, H. T., u. H. S. Gasser: J. Pharmacol. (Am.) **43**, 163 (1931). — [10] Mason, M. F., H. Resnik, jr. u. T. R. Harrison: J. biol. Chem. (Am.) **109**, LIX (1935); U. S. v. Euler: Skand. Arch. Physiol. **80**, 94 (1938). — [11] Gollwitzer-Meier, Kl.: Pflügers Arch. **222**, 124 (1929). — [12] Weinberg, S. J.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **178**, 397 (1935); **185**, 239 (1937). — [13] Shuh, T. H., C. H. Wang u. R. K. Lim: Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. (Am.) **32**, 1410 (1935). — [14] Mercier, F., u. J. Delphaut: C. r. Soc. Biol. **129**, 318, 319 (1938).

Für das allgemeine Bild der Veratrinwirkung auf den Kreislauf ergibt sich aus unseren Versuchen, daß man stets mit einem Wettstreit von zwei gegensätzlichen Wirkungen zu rechnen hat, nämlich zwischen der hier aufgezeigten zentral pressorischen und der reflektorisch depressorischen, die in der Hauptsache vom Herzen und unter Umständen und in schwächerem Grade vom Glomus caroticum ausgeht [2]. So wird verständlich, daß je nach den Bedingungen gegensätzliche Erfolge zustande kommen müssen: wenn z. B. v. Bezold und Hirt [1] bei der intravenösen Injektion am vagotomierten Tiere Blutdrucksteigerungen erhielten, dann war eben der cardiogene Depressoreffekt unterbrochen und es kam der zentral pressorische zur Geltung; wenn sie hingegen bei intaktem Vagus injizierten, dann beherrschte der cardiogene Reflex die Situation und wenn sie bei der Injektion zentral in die Carotis die Bradycardie und die Blutdrucksenkung besonders stark auftreten sahen, dann lag eben eine starke Erregung der pressorischen Rezeptoren im Carotissinus und danach jener im Herzen durch das aus dem Kopfe zurückströmende Veratrin vor und die zentral pressorische Komponente mußte zurücktreten, weil die A. carotis interna beim Kaninchen ein wenig beachtliches Gefäß ist. Jetzt wird auch klar, warum im Schrifttum bei der Kreislaufwirkung des Veratrins, Protoveratrins und verwandter Alkaloide ein so wechselndes Verhalten des Blutdrucks vermerkt wird [15]: der Zustand des Reflexapparates, die Art der Narkose, die Umlaufzeit des Blutes, die Geschwindigkeit der Injektion u. a. muß darüber entscheiden, welche der beiden Wirkungen jeweils den Vorrang erhält. — Zeitlich ist die reflektorisch depressorische Wirkung die flüchtigere und weil sie auch leichter geschädigt wird als die zentral pressorische, können kombinierte Wirkungen — erst Drucksenkung mit Bradycardie, dann Blutdrucksteigerung mit Beschleunigung — auftreten, wie z. B. in den Versuchen von Jarisch und Richter [2], in denen die afferente Bahn des Veratrinreflexes in den Herznerven schrittweise unterbrochen wurde.

Zusammenfassung.

Durch Injektion des Veratrins in die A. vertebralis konnte festgestellt werden, daß es eine zentral pressorische Wirkung hat; eine unmittelbare Erregung des Herzhemmungszentrums wurde nicht beobachtet.

Auch bei der Injektion in den vierten Ventrikel traten Blutdrucksteigerung und Pulsbeschleunigung ein; dabei kam es auch zur Glykosurie.

[15] Lissauer, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **23**, 36 (1887); Eden, Th. W.: Ebenda **29**, 440 (1892); Haas, H. T.: Ebenda **189**, 397, 411 (1938).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Tierärztlichen Hochschule in Brünn.
Vorstand: Prof. Dr. J. Lebduška.

Über die Wirkung des Chlorkalks auf die Haut.

Von

J. Lebduška, J. Pidra und F. Pokorny.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. August 1939.)

I.

Die Erfahrungen aus der Praxis des zivilen Luftschutzes zeigen uns, daß die Anleitungen zu den verschiedenen, von Laien auszuführenden Hilfeleistungen, genau und ausführlich gegeben werden müssen. Ungenau gehaltene Instruktionen werden sehr verschieden ausgelegt und die nach ihnen von Laien ausgeführten Eingriffe sind manchmal vollkommen unzureichend, manchmal aber so übertrieben, daß ernste Schäden entstehen können. Das gilt besonders auch für die Anwendung des Chlorkalks zur ersten Hilfe bei der Benetzung der Haut mit Dichlordiäthylsulfid. Es ist zwar allgemein bekannt, daß Chlorkalk nach längerer Berührung eine Reizwirkung auf die Haut ausübt, wir verfügen jedoch nicht über genaue Angaben darüber, unter welchen Bedingungen wir eine schädigende Wirkung des Chlorkalks in seinen verschiedenen Formen befürchten müssen. Es wäre ratsam in den Anleitungen zur ersten Hilfe immer die genaue Zeit der Anwendung sowie andere Umstände, die auf die Reizwirkung der angeführten Substanz Einfluß haben, anzugeben. Ähnlicher Anschauung ist auch Schwarz[1] wenn er ausführt: „Auf Grund bisheriger Beobachtungen scheinen uns zur Assanation der Haut mit Chlorkalk und Hypermangan viel genauere Vorschriften erforderlich zu sein, besonders wenn wir diese Eingriffe dem Laien anvertrauen müssen. Es ist gefährlich, den Chlorkalkbrei allgemein zu empfehlen."

In Wirklichkeit scheint aber eine Anleitung, die die Zeit und andere Bedingungen für die Benutzung des Chlorkalks begrenzt, eine nicht allzu häufige Erscheinung zu sein. Die Dauer der Applikation des Chlorkalks auf die Haut geben folgende Autoren an: Muntsch[2], Eichholtz-Wachsmuth[3], Schwarz[4], Dautrebande[5], Hédérer-Istin[6], Hubáček[7], Paul[8], Vondráček[9]. Die Arbeit von Schrafl[10] war uns nicht zugänglich. Wenn wir die Angaben der genannten Autoren zusammenfassen, so kommen wir zu folgenden Schlüssen: Trockener Chlorkalk darf 2—3 Minuten lang, 25—50%iger, mit Talk oder Magnesiumoxyd verdünnter, 10—15 Minuten lang in die Haut eingerieben werden. Für den Chlorkalkbrei (es wird größtenteils 50%iger, manchmal auch 10—30%iger angegeben) werden am häufigsten Werte von 10 Minuten (mit und ohne Einreibung), manch-

---

[1] Schwarz: Protar, Jg. 3, Nr. 3, S. 37 (1937). — [2]) Muntsch: Gasschutz und Luftschutz, Jg. 6, S. 50 (1936). — [3] Eichholtz-Wachsmuth: Z. ärztl. Fortbild. 1936, Nr. 15, Ref. Obrana obyvat. Lékař. čís. 1937, S. 36. — [4] Schwarz: Protar, Jg. 3, Nr. 3, S. 37 (1937). — [5] Dautrebande: Les Gaz toxiques, Paris 1933. — [6] Hédérer-Istin: L'arme chimique, Paris 1935. — [7] Hubáček: Asanace lidí a zvířat, Lutín 1937. — [8] Paul: CPO. T. I., S. 109; T. II., S. 278, Praha 1937. — [9] Vondráček: Obrana obyvat. Jg. II, S. 349 (1936/37). — [10] Schrafl: Schweiz. med. Wschr. **1936**, S. 591.

mal nur von 2 - 3 Minuten angeführt. In anderen Arbeiten wird eine Einwirkungsdauer bis zu 15 Minuten (ohne Einreibung) empfohlen. Nach Hubáček ist einfaches Anlegen von Chlorkalkbrei oder trockenem Chlorkalk für die Dauer von 10 Minuten (ohne Einreibung) zur Detoxikation des Senfgases auf der Haut nur wenig wirksam und die so durchgeführte Assanation soll unzureichend sein. Dieser Befund hätte, falls er bestätigt würde, eine sehr ernste Bedeutung, denn das Einreiben des Breies erhöht bedeutend das Risiko einer Hautverletzung.

Durch eigene Versuche überprüften wir: 1. Den Gehalt des käuflichen Chlorkalks an Chlor und festen Beimengungen in 15 Proben. 2. Die Wirkung des trockenen Chlorkalks auf gesunde menschliche Haut bei leichtem Verreiben. 3. Die Wirkung des Chlorkalkbreies bei einfachem Anlegen (ohne Einreibung) und bei Verreibung. 4. Eine von den Laien durchführbare Art der Chlorkalkbreiverwendung.

II. Der käufliche Chlorkalk, sein Chlorgehalt und andere Eigenschaften.

Der in den Apotheken für ärztliche Zwecke erhältliche offizinelle Chlorkalk (Calcaria chlorata, Calcium hypochlorosum) scheint praktisch mit dem für technische Zwecke benutzten Erzeugnisse identisch zu sein, wie die weiter beschriebenen Tatsachen zeigen. Man kann ihn beim heutigen Stand der Erzeugung chemisch nicht genau definieren. Er ist ein technisches Produkt, das praktisch Calciumhypochlorit und Calciumchlorid, daneben auch stets Calciumhydroxyd und Calciumoxyd in nicht konstantem Verhältnis enthält. Die Pharmakopöen schreiben einen Minimalgehalt an aktivem Chlor (DAB. 6. A. 25%) vor. Im Wasser ist er nur teilweise löslich, verdünnte Essigsäure löst ihn unter Entwicklung von Chlor. Der zu den in dieser Arbeit unter II. und IV. beschriebenen Versuchen verwendete Chlorkalk wurde uns von der Apotheke in Kartonschachteln, die mit einer schwarzbraunen Isoliermasse angestrichen waren, geliefert und war mit einem blauen Papierumschlag mit der Bezeichnung: „Höchstgradiger und garantiert reiner Chlorkalk in haltbarer, wasser- und luftdichter Verpackung" versehen. Die Erzeugungsfirma war auf den Päckchen nie angeführt. Das Produkt war offenbar ebenso für technische wie auch für medizinische Zwecke bestimmt.

Orientierungsversuche zeigten uns, daß die verschiedenen Packungen wahrscheinlich Produkte einigermaßen verschiedener chemischer, physikalischer und physiologischer Eigenschaften enthielten. Wir stellten uns daher die Frage: 15 Personen kaufen in 12 Brünner Apotheken je 100 g Chlorkalk, den sie zur Assanation der mit Senfgas benetzten Haut benutzen. Welche Packungen werden ihnen ausgefolgt, welche Eigenschaften (hauptsächlich Cl-Gehalt) wird das Mittel haben und welche Wirkung wird es auf die Haut ausüben? Genau nach diesem Plan bezogen wir in 12 Apotheken 15 Chlorkalkproben zu je 100 g, 13 davon auf ärztliche Vorschrift, 2 im freien Handel. Bei allen Proben untersuchten wir: die Art der Packung, Aussehen, Reaktion des Gemisches mit Wasser (mittels Lackmus), den Gehalt an aktivem Cl, die Löslichkeit in verdünnter Essigsäure, die Konsistenz des durch Zufügen von 60% Wasser entstandenen Breies und schließlich die Wirkung auf gesunde menschliche Haut.

Von 15 uns ausgefolgten 100-g-Proben des Chlorkalks waren 12 in blauen Päckchen, wie wir sie oben beschrieben haben. In 3 Fällen wurde die

Chemikalie in breithalsigen Flaschen mit manchmal paraffiniertem Korkpfropf expediert. Das Pulver war größtenteils trocken, grauweiß. Nur 3 Packungen (1 Flasche, 2 Päckchen) enthielten ein in verschiedenem Grade feuchtes Pulver. Eines dieser Muster, das in der Flasche vollkommen verbacken war, enthielt nur 0,54% Cl. In den beiden Päckchen war die Feuchtigkeit viel kleiner, eines dieser Muster enthielt 16,41%, das andere 26,15% Chlor. Ein schwacher Feuchtegrad muß also nicht immer einen niedrigen Chlorgehalt bedeuten. Alle Proben, mit Wasser gemischt, reagierten alkalisch auf Lackmus mit nachfolgender Bleichwirkung.

Den Gehalt an aktivem Chlor bestimmten wir nach der Vorschrift des DAB 6. A., wie es genau von Herzog-Hanner[11] angegeben wird. Der Inhalt jedes einzelnen Päckchens wurde vor der Titration und den Versuchen durch Mischen in der Reibschale sorgfältig homogenisiert. Die gezogenen Proben hatten absteigend folgenden Cl-Gehalt in %: 32,55—29,29 -29,29—28,36—26,97 -26,15—24,5 -23,75 -23,64—19,16—17,65 -17,42 -16,41 -15,76—0,54. Von 15 Packungen hatten also nur 6 den von der Pharmakopöe vorgeschriebenen Cl-Gehalt. Von diesen 6 Proben waren 5 in blauen Päckchen, 1 in einer Flasche. Von 9 nicht entsprechenden Proben waren 7 in Päckchen und 2 in Flaschen, von denen eine schon makroskopisch stark verändertes, stark feuchtes Produkt mit einem Chlorgehalt von nur 0,54% Cl enthielt. Nach Weidner[12] muß Chlorkalk, um Senfgas in genügender Weise zu neutralisieren, mindestens 15—16% Cl enthalten. Dieser Forderung entsprachen alle Muster bis auf eines. Rojahn und Zietan[13] fanden bei 6 Chlorkalkproben folgenden Gehalt an wirksamem Chlor: 26,13 -18,62 -15,8 -23,30—26,67—33,01%.

Bei der Bereitung der Breie wurde bei einem Großteil der Proben die Anwesenheit sandiger, harter Bestandteile beobachtet. In Wasser sind sie vollkommen oder zum größten Teile unlöslich. Da aber diese Beimengungen bei der Einreibung in die Haut auf rein mechanischem Wege die Gefahr einer Schädigung der Haut bedeutend erhöhen können, versuchten wir sie von den anderen löslichen und unlöslichen Bestandteilen zu isolieren und ihre Menge in jeder Probe zu bestimmen.

Dekantation führte nicht zum Ziele, die Resultate waren bei Wiederholung quantitativ nicht identisch. Auch die Benutzung feiner Siebe würde diesem Zwecke nicht entsprechen. Wir verarbeiteten deshalb der Orientierung halber 10 g eines Chlorkalkmusters ähnlich wie bei der Dekantation, ersetzten aber in späteren Phasen die Sedimentierung durch Zentrifugieren im reinen Glycerin. In flachen Agglutinationseprouvetten teilten wir schließlich den Bodensatz ab, der nach Untersuchung mittels einer 12mal vergrößernden Lupe aus sandartigen weißen und braunen Körnchen und Lackteilchen, die bei Öffnen der Pappschachtel in den Inhalt gelangten, besteht. Die beigelegte Photographie orientiert über die Menge der festen Bestandteile, die aus 10 g Chlorkalk erhalten wurde (s. Abb. 1 a. f. S.).

---

[11] Herzog-Hanner: Chem. u. physikal. Prüfungsmeth. des DAB. 6. — [12] Weidner: Gasschutz und Luftschutz, Jg. 6, S. 133 (1936). — [13] Rojahn-Zietan: Pharmaz. Ztg. **80**, 958 (1935); Ref. Chem. Zbl. 1936, I. 1, S. 587.

Der Großteil dieser sandartigen Verunreinigungen ist in verdünnter Essigsäure oder Salzsäure unter Gasentwicklung leicht löslich. Es handelt sich also wahrscheinlich um Carbonate, die aus der Erzeugung erhalten blieben. Nur ein kleiner Teil des Sedimentes ist in Säuren unlöslich. Die Menge der in verdünnter Essigsäure unlöslichen Bestandteile bestimmten wir auf übliche Weise. Der Gehalt dieser Beimengungen war bei 11 Chlorkalkproben aufsteigend in % folgender: 2,1—2,3—2,5—2,5—2,7—2,8 —4,2—4,3—5,2 5,8—13,2. Die von uns gefundenen Zahlen sind jedoch etwas höher als es dem wirklichen Gewicht des säureunlöslichen Sandes entspricht. Das Filtrierpapier blieb nämlich auch nach dem wiederholten Auswaschen mit einem festen, weißlichen Überzug inkrustiert und im Gewicht sind auch die Teilchen des Isolierungslackes, die beim Öffnen der Schachtel in den Inhalt fallen, einbegriffen. Besonders das letzte Muster war durch die Manipulation mit einer größeren Menge Schutzlack verunreinigt.

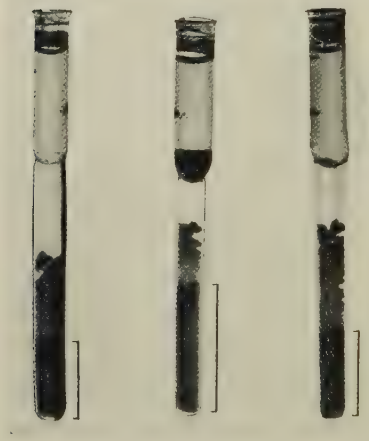


Abb. 1. Die Höhe der Schicht des sandartigen Satzes aus 10 g Chlorkalk ($^2/_3$ der natürlichen Größe).

Auch das Gemisch von Wasser mit Chlorkalk zeigt uns, daß diese Chemikalie ein System von Substanzen darstellt, dessen physikalische, chemische und physiologische Eigenschaften man nicht genau voraussehen kann. Wir beobachteten nämlich, daß bei Vermischen von 40% Pulver mit 60% Wasser in der Reibschale 3 Möglichkeiten entstehen können: entweder ist die entstandene Mischung von zäher, breiiger Konsistenz oder sie ist zuerst flüssig, um sich ziemlich schnell zu einem Brei zu verdichten, oder schließlich ist und bleibt sie flüssig, wässerig (Chlorkalkmilch). Dort, wo wir die entstandene Milch in Brei überführen wollten, mußten wir den Gehalt an Chlorkalk auf 50—66% erhöhen.

Zwischen der flüssigen und breiigen Konsistenz können allerdings auch verschiedene Übergangsgrade auftreten. Als flüssiges (milchartiges) Gemisch bezeichnen wir ein solches, das bei senkrechter Stellung des Löffels oder Spatels bis auf einen schwachen Belag abfloß, wogegen das breiige Gemisch haften blieb. Der Brei war also ziemlich zähe, aber trotzdem feucht, nicht trocken wie Paste. Die Mischungen bereiteten wir so zu, daß wir zum Chlorkalkpulver in der Reibschale sorgfältig Wasser in kleinen Mengen bis zu 60% zugaben und ständig mit dem Pistill mischten, wie es in der Pharmazie üblich ist. Dabei trachteten wir, die ganze Zubereitung immer in gleich langer Zeit zu erledigen. Die Temperatur des Gemisches stieg auf etwa 29° C.

Da die weiter beschriebenen Versuche zeigten, daß diese flüssigen Gemische eine viel stärkere Reizwirkung auf die Haut ausüben als die zähen Breie, mußten wir uns mit diesen Erscheinungen näher befassen. Wir vermuteten zuerst, daß die Tendenz zur Entstehung wässeriger oder zähbreiiger Gemische eine spezifische Eigenschaft bestimmter Chlorkalkmuster ist, die in Zusammenhang mit deren chemischen und physikalischen Zusammensetzung steht. Wir dachten besonders an den Gehalt an Chlor, Calciumchlorid und Calciumoxyd. Es stellte sich jedoch heraus, daß die Bindung des Wassers in keinem absolut festen Zusammenhang mit dem Cl-Gehalt steht. So entstanden z. B. flüssige Gemische in einer zur Entscheidung dieser Frage durchgeführten Versuchsreihe aus Proben mit einem Cl-Gehalt von: 32,55 29,29—28,36—26,97 26,15 19,16 17,42—15,76. Dichte Breie entstanden aus Proben mit: 29,29 24,5 23,75—23,64 17,65 16,41—0.54. Die Kalke, die mit 60% Wasser ein flüssiges Gemisch gaben, hatten also in 5 von 8 Proben den Cl-Gehalt über 25%, Kalke, die sich in Form von zähen Breien mischten, in 6 von 7 Fällen einen Gehalt unter 25% Cl. Es scheint daher, daß Produkte mit höherem Cl-Gehalt eher zur Bildung flüssiger 40%iger Gemische neigen. Es ist aber trotzdem klar, daß der Brei bei jedem Cl-Gehalt zähe oder flüssig ausfallen kann. — Weitere Versuche zeigten, daß auch aus derselben Probe eine und dieselbe Person bald ein flüssiges, bald ein breiförmiges Gemisch herstellen kann, wenn sie darauf bedacht ist, während des ganzen Mischungsprozesses gleichmäßig zu arbeiten. Die Ursache dieser Erscheinung können wir nicht erklären und wir konnten uns auch nicht in ein detailliertes Studium einlassen.

III. Trockener Chlorkalk, seine Wirkung auf die Haut.

Alle Versuche zur Bestimmung der Wirkung verschiedener Formen des Chlorkalks führten wir auf der gesunden Haut der volaren Fläche des Unterarmes an verschiedenen Personen im Alter von 20—48 Jahren durch. Wir rieben trockenes Chlorkalk mit einem mit Kaliko umhüllten Wattetampon in die Haut ein. Nach Abwischen des Chlorkalks von der Haut wurde in einer Gruppe von Versuchen keine weitere Behandlung mehr durchgeführt, in einer anderen Gruppe wurde die Stelle 3 Minuten mit Seife in fließendem Wasser gewaschen. Diese beiden nachträglichen Behandlungsarten hatten auf das Ergebnis keinen deutlichen Einfluß.

Wir machen darauf aufmerksam, daß es sehr auf die Intensität des Einreibens, d. h. besonders auf den Druck, daneben auch auf die Schnelligkeit und die Zahl der Reibbewegungen in der Zeiteinheit ankommt. Bei dem gewaltsamen Einreiben entstehen Schädigungen der Haut auf vorwiegend mechanischer Grundlage in viel kürzerer Zeit, als bei zartem Verreiben. Die Vorstellung, daß man durch intensiveres Verreiben eine bessere Neutralisierung des Gelbkreuzes erreicht, scheint wenig Berechtigung zu haben. Auch zartes, aber sorgfältiges Verreiben und Mischen des Chlorkalks auf der Haut dürfte genügen, um ihn in vollkommenen Kontakt mit dem Senfgas auf der Hautoberfläche, in den Hautfalten, in den Öffnungen der Hautfollikel und der Talgdrüsen zu bringen. Das Chlor wirkt wahrscheinlich auch ein wenig in die Tiefe. Eine feste Substanz vom Typus des Chlorkalks kann aber auch bei starkem Einreiben nicht in die verhornte Hautschicht eindringen, es wäre denn nach mechanischer und chemischer Destruktion dieser Schutzschicht.

Tiefer dringen kann es dabei in die Öffnungen der Haarfollikel und der Hautdrüsen, deren Zellen aber sehr empfindlich sind. Deswegen entwickeln sich besonders an diesen Stellen nach Einreiben des Chlorkalks Entzündungen und später punktförmige Blutungen.

Die Dauer der Einreibung war nach folgendem Plan abgestuft (in der Klammer ist die Zahl der Versuche angegeben): 3 Minuten (1), 5 Minuten (4), 10 Minuten (4), 15 Minuten (2), 20 Minuten (4). Die Chlorkalke, die zu 20 Minuten langem Einreiben bestimmt waren, enthielten 23,64—24,5% aktiven Chlors. Ergebnisse: In keinem von unseren 15 Versuchen entstand nach einer Einreibung von 3—20 Minuten eine Schädigung der Haut. Nach dem Verreiben fand man regelmäßig eine Rötung der Haut (Erythem) anscheinend mechanischen Ursprungs vor, die spontan nach $^1/_2$—1 Stunde verschwand. Die bisherigen Vorstellungen über die Benutzung trockenen Chlorkalks kann man auf Grund unserer Versuche dahin erweitern, daß man damit bei zartem Vorgehen die gesunde Haut auch längere Zeit, das ist 10—15 Minuten, einreiben kann. Es ist ein viel weniger gefährliches Mittel als der häufig empfohlene 30—50%ige Brei. Seine Anwendung bei der ersten Hilfe hat sorgfältiges Absaugen des flüssigen Lostes von der Haut mit Filtrierpapier, Watte usw. zur Voraussetzung, um so der Wärmereaktion vorzubeugen. Er wird dort ein wertvolles Mittel sein, wo man die Assanation ohne Wasser durchführen muß; die Haut muß nicht nach Verreibung des Pulvers abgewaschen werden. Dieser Umstand ist bei Wassermangel im Felde und anderswo von Bedeutung.

IV. Wirkung des Chlorkalkbreies ohne Einreiben.

Die Chlorkalkwassergemische bereiteten wir nach dem oben beschriebenen Verfahren. Wir untersuchten die Wirkung von Breien, die einerseits 30%, andererseits 40% Chlorkalk mit dest. Wasser gemischt enthielten. Der 30%ige Brei ist immer flüssig, milchartig (Chlorkalkmilch). Das 40%ige Gemisch ist manchmal von zäher, breiiger Konsistenz, andersmal ist es flüssig.

Die flüssige 30%ige Chlorkalkmilch zerfließt leicht auf der Haut von der Applikationsstelle und deshalb applizierten wir sie folgendermaßen: Vierecke 3×3 cm hydrophiler Gaze wurden in vierfacher Schicht im Überschuß mit dem Brei getränkt und auf die Haut des Unterarms aufgelegt. Nach Ablauf der festgesetzten Zeit wurden sie entfernt, die Stelle 3 Minuten mit Seife gewaschen und getrocknet. Die Wirkungsdauer war folgende (die Zahlen in der Klammer geben die Anzahl der Versuche an): 5 Minuten (2), 10 Minuten (3), 15 Minuten (2), 20 Minuten (2), 30 Minuten (2).

Ergebnisse: Ein Anlegen von 5—15 Minuten verursachte keine Veränderungen auf der Haut. Nach 20 Minuten dauernder Einwirkung beobachteten wir nur unbedeutende Mazeration der Haut und schnell verschwin-

dende Hyperämie. Längere Wirkungsdauer (30 Minuten) kann schon ernstere Veränderungen verursachen.

Bei einem unserer zwei Fälle, bei dem der Brei 30 Minuten angelegt war, stellte sich nach der 26. Minute ein Juckgefühl, später Hyperämie und Mazeration der Epidermis ein. Die zweite Person fühlte schon bald nach der 20. Minute ein starkes Brennen, ließ aber den Brei doch ganze 30 Minuten auf der Haut. Nach Abwaschen der Stelle bestand schon starke Hyperämie, die Oberfläche war mazeriert, durch die Mitte der Applikationsstelle zog sich ein gelblich gefärbter Streifen, der über die Umgebung prominierte (Exkoriation, papulöse Dermatitis). An dieser Stelle bildete sich später eine braungelbe Kruste. Der Defekt wurde mittels Desitinsalbe behandelt. Nach Ablösung des Schorfes innerhalb von 9 Tagen bedeckte er sich mit neugebildetem Epithel. Das weißliche Narbengewebe, das nach einigen Monaten verschwand, war lange von einem Pigmentrand umgeben. Die Ätzung entstand also nicht auf dem ganzen Wirkungsfelde, sondern nur in einem mittleren Streifen.

Die 30%ige flüssige Chlorkalkmilch kann also eine lokal ungleichmäßige Wirkung entfalten, indem sie an einem Teile des Wirkungsfeldes eine schwere Beschädigung der Haut entstehen lassen kann, während die anderen Teile der Applikationsstelle ohne Reaktion bleiben. Die Ursache dessen kann man darin suchen, daß sich aus dem dünnen Brei ein wässeriger Auszug bildet, der sich an einigen Stellen unter dem Brei sammelt. Dieser Auszug kann fast das ganze wirksame Chlor enthalten, wie Flörke[14] für das Losantin zeigen konnte. Dadurch wirkt das schädliche Agens auf verschiedene Hautstellen mit verschiedener Intensität. In Anbetracht der beschriebenen Umstände muß man den 30%igen Brei (eigentlich Chlorkalkmilch) als ein zur Anwendung auf der Haut ungeeignetes Mittel bezeichnen.

Den 40%igen Brei trugen wir größtenteils in einer 3–5 mm dicken Schicht direkt auf die Haut auf und bedeckten diese mit Kalikovierecken. Wir überprüften die Dauer des Anlegens (in Klammer die Anzahl der Versuche): 10 Minuten (2), 15 Minuten (2), 20 Minuten (4), 25 Minuten (3), 30 Minuten (6). Nach Entfernung des Breies wurde die Stelle 3 Minuten lang mit Seife und fließendem Wasser gewaschen. Ergebnisse: Bis zur 10. Minute ist keine Hautreaktion bemerkbar, nach 15—20 Minuten langem Anlegen ist die Epidermis leicht mazeriert und gerötet, das Erythem schwindet innerhalb 5—10 Minuten. Diese Symptome sind nach 25 Minuten währender Wirkung etwas stärker ausgeprägt. Eine 30 Minuten dauernde Wirkung kann unter Umständen nur oberflächliche Mazeration und vorübergehendes Erythem verursachen, mitunter wird auch ein Jucken verspürt. Nur bei einer unserer 6 Versuchspersonen entstand eine länger andauernde Hyperämie mit Anzeichen einer schwachen belanglosen Hautentzündung. Man kann also 40%igen, durch sorgfältiges Mischen in der Reibschale hergestellten Brei sorglos für die Dauer von 10 Minuten auf der Haut (ohne Verreibung) belassen. Aber auch ein 15–20 Minuten langes Anlegen wird in der Regel ohne ernstere Reaktion vertragen. Die von Muntsch emp-

[14] Flörke: Draeger-Hefte 1939, S. 4072.

fohlene Art der Hautassanation ist also auch nach unseren Versuchen als für die Haut unschädlich zu betrachten.

V. Wirkung des Chlorkalkbreies bei Verreibung.

Für diese Versuche verwendeten wir 15 Chlorkalkproben aus zwölf verschiedenen Apotheken. Den Chlorgehalt und andere Eigenschaften dieser Produkte haben wir bereits unter II. dieser Arbeit beschrieben. Die Chlorkalkbreie wurden durch Zerreiben des Pulvers mit Wasser in einer Reibschale bereitet. Die Hautwirkung wurde auf der volaren Seite des Unterarmes geprüft. Der Brei wurde mit einem befeuchteten, fest zusammengedrückten Wattetampon verrieben. Es wurden im ganzen 21 Versuche durchgeführt, in denen die Dauer der Applikation von 2—12 Minuten abgestuft wurde.

Ergebnisse: Chlorkalkbrei schädigt die Haut beim Einreiben viel eher und ernster als ohne Einreiben oder als Chlorkalkpulver. Die Hautschädigungen, welche durch das Verreiben des Chlorkalkbreies hervorgerufen werden, kommen folgendermaßen zum Ausdruck: Das erste beim Verreiben auftretende Symptom der Hautreizung ist gewöhnlich ein Gefühl des Brennens, dem manchmal ein Erythem und eine Mazeration der oberflächlichen Schichten der Epidermis vorausgeht. Unterbrachen wir das Verreiben sofort nach dem Beginn des Brennens, so fanden wir nach Abwaschen mit Seife gewöhnlich nur eine Hyperämie, diffuse oder follikuläre, die sich im Laufe weiterer Stunden verstärkte, um dann verhältnismäßig schnell wieder zu verschwinden. — Beim höheren Grade der Schädigung entwickeln sich neben der Hyperämie auch Mazeration der Hornschicht und schwächere oder stärkere papulöse Dermatitis. Die Papeln bildeten sich hauptsächlich um die Haarfollikeln und die Ausführungsgänge der Schweißdrüsen. Innerhalb von 24—30 Stunden entstanden an diesen Stellen punktförmige Hämorrhagien, die im Laufe einiger Tage in Form von rotbraunen, disseminierten kleinen Krusten über die Oberfläche der Epidermis hervortraten (Abb. 2). Die Läsion heilte innerhalb weniger Tage ohne Behandlung. — Unterbricht man das Verreiben nach den ersten Reizsymptomen nicht, so entstehen entsprechend schwerere Veränderungen: Dermatitis, später konfluierende Hämorrhagien, starke Mazeration bis völlige Exkoriation der Hautoberfläche, punkt- bis flächenhafte Blutungen. Die Basis der Wunde zeigt oft eine papulöse Struktur (Abb. 3). Später bedeckt sich die Wunde mit einer gelbbraunen Kruste oder braunem Schorf, unter dem die Heilung

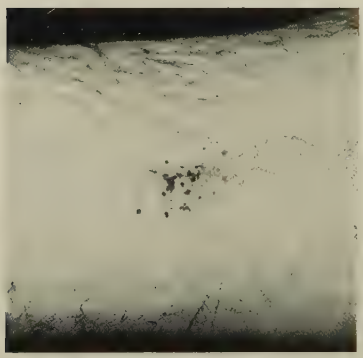


Abb. 2. Chlorkalk mit 15,76 % Cl. Verreiben des 40 %igen flüssigen Breies 5 Min. lang bis zum Auftreten des Brennens. Zustand nach 2 Tagen. Punktförmige Hämorrhagien.

verläuft (Abb. 4). Bei tieferen Exkoriationen wird man wahrscheinlich auch eine Nekrose der oberflächlichen Schichten des entblößten Hautgewebes voraussetzen müssen. Drei ähnliche schwerere Fälle der tiefen Exkoriationen mit starken Blutungen beobachteten wir nach 5 Minuten langem kräftigem Einreiben 40%igen flüssigen Breies (Chlorkalk mit 32,55% wirksamen Chlors). Sie heilten nach 8 bzw. 21 und 26 Tagen.

Die Intensität der Reizwirkung des Chlorkalkbreies kommt jedoch sehr ungleichmäßig zum Ausdruck. Manchmal können schon in kurzer Zeit (2,5—3,5 Minuten) schwerste Grade der Hautschädigung (Exkoriationen) entstehen, andersmal kann ein längeres Verreiben (bis 11 Minuten) nur leichte Läsionen hervorrufen (Erythem, Petechien). Es läßt sich keine genaue Zeitgrenze angeben, bei welcher keine Schädigungen entstehen, ohne vorerst verschiedene Umstände, welche diese Schwankungen ver-

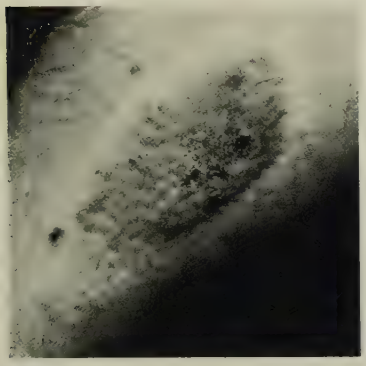


Abb. 3. Zustand nach 1 Stunde. Exkoriation, die Basis papulös verdickt.

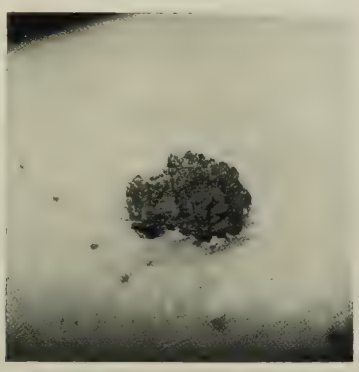


Abb. 4. Nach 12 Tagen. Brauner Schorf, ringsherum neugebildetes Epithel.

Abb. 3 und 4. Starkes Einreiben von flüssigem 40 %igen Chlorkalkbrei (32,55 % Cl). Nach 3 Min. Hautbrennen, es wurde bis zu 5 Min. eingerieben. Tiefe Exkoriation, starke flächenförmige Blutung.

ursachen, zu besprechen. Der Grad der Hautschädigung hängt gleichzeitig von folgenden Umständen ab: von der Dauer und der Intensität des Verreibens, von der chemischen und physikalischen Zusammensetzung des Chlorkalkes (Chlorgehalt, sandartigen Beimengungen u. a.), von der Konsistenz und Homogenisierung des Wassergemisches und auch von der individuellen Empfindlichkeit jedes einzelnen. Ziehen wir nun die wichtigsten Faktoren, welche die Schwere der Hautschädigung beeinflussen, in Erwägung, ergibt sich folgendes:

Die Intensität des Einreibens ist für den Grad der Hautschädigung von entscheidender Bedeutung. Besonders der Druck, daneben auch die Schnelligkeit und die Anzahl der Bewegungen beim Verreiben machen sich geltend. Bei dem gewaltsamen Einreiben entstehen schwere Verletzungen in viel kürzerer Zeit als bei zartem Verreiben. So z. B. bildeten sich Ex-

koriationen bereits nach 2,5 Minuten langem starkem Einreiben, während bei schwachem Verreiben dazu wenigstens 9 Minuten notwendig waren. In einem Falle verursachte ein 11 Minuten dauerndes schwaches Verreiben nur ein Gefühl des Brennens.

Der Gehalt an wirksamem Chlor in Grenzen von 15,76—32,55% hat ebenfalls einen deutlichen, wenn auch nicht so augenfälligen und ausnahmslosen Einfluß, wie die Intensität des Einreibens. Es scheint eher, daß die Wassergemische bei höherem Chlorgehalt häufiger eine flüssige Konsistenz annehmen und dadurch die Haut stärker angreifen. Eine Chlorkalkprobe mit 16,41% Cl rief beim 11 Min. langen mäßigen Verreiben eine bedeutungslose Mazeration und später Petechien hervor, eine andere mit 23,64% Cl unter gleichen Bedingungen eine schwächere Exkoriation mit punktförmigen Blutungen. Ein Chlorkalkmuster, das nur 0,54% Chlor enthielt, rief auch nach 25 Minuten währendem zarten Verreiben keine Hautreaktion hervor.

Die Konsistenz des Chlorkalk-Wassergemisches ist einer der wichtigsten Faktoren. Wie wir schon unter II. beschrieben haben, entstehen beim Chlorkalkgehalt von 40% manchmal flüssige, andersmal breiige Gemische. Aus den Versuchen ergab sich, daß im allgemeinen die flüssigen Gemische bedeutend stärker reizen als die breiigen. Wurde die flüssige 40%ige Chlorkalkmilch mittels Chlorkalkpulver zu breiiger Konsistenz eingedickt, so verringerte sich die Reizwirkung sehr bedeutend. Diese Tatsache konnten wir in 6 Versuchen mit Chlorkalkproben von 15,76—28,36% Cl-Gehalt beobachten. Wir haben schon gezeigt, daß die Chlorkalkproben mit höherem Cl-Gehalt eher — aber nicht ausnahmslos — zur Bildung flüssiger 40%iger Gemische neigen. Eine genaue Erklärung für diese Erscheinung läßt sich aus unseren Versuchen jedoch nicht bringen. Mit Rücksicht auf die stärkere Reizwirkung der flüssigen Gemische sollte man daher für die erste Hilfeleistung grundsätzlich ein breiiges Gemisch empfehlen, und zwar ohne Rücksicht darauf, welches Verhältnis von Chlorkalk und Wasser zur Erreichung der erforderlichen Konsistenz notwendig ist. Ein Brei von entsprechender Dichte soll vom senkrecht gestellten Löffel nicht abfließen und soll auch nicht zu trocken sein. In unseren Versuchen waren dazu 40—60% Chlorkalk notwendig.

Die Zeit, in der die Verreibung noch ohne Hautschädigung vertragen wird, läßt sich wegen der außerordentlichen Unterschiede der Reaktionen nur annähernd angeben, mit stetiger Berücksichtigung der bereits besprochenen Faktoren. Bei leichtem Verreiben von der Dauer bis 8 Min. haben wir nur bedeutungslose Läsionen (Hyperämie, Mazeration, punktförmige Hämorrhagien) beobachtet. Ein längeres Verreiben als 8 Min. rief in einigen Fällen schon Abschürfungen hervor, während in anderen nur schwächere Wirkung zum Vorschein kam. Starkes Verreiben der flüssigen Breie kann nach 2 Min. eine stärkere Mazeration und Dermatitis, nach 2,5 Min. schon eine Exkoriation verursachen. Weil auch der Begriff

„schwaches" oder „starkes" Verreiben sehr verschieden ausgelegt und durchgeführt wird, scheint uns als zuverlässigstes Zeichen für die Notwendigkeit der augenblicklichen Unterbrechung des Verreibens das Auftreten des Gefühls von Brennen zu sein. Je nach Intensität des Verreibens stellt sich dieses Gefühl zwischen 2—5 -8 Min. ein. Wird der Brei gleich nach dem Auftreten des Brennens entfernt, entwickeln sich gewöhnlich nur bedeutungsloses Erythem, Dermatitis bis punktförmige Hämorrhagien in den Mündungen der Hautdrüsen und Haarfollikeln, welche keine Beschwerden verursachen und ohne Behandlung heilen.

VI. Die Verwendung des Chlorkalkbreies durch Laien.

Bei Verwendung des Chlorkalkbreies durch Laien müssen wir zwei wichtige Umstände voraussetzen: Erstens, daß das Chlorkalk-Wassergemisch schnell und mit Hilfe einfachster Haushaltgeräte (Löffeln, Schalen) bereitet wird, und zweitens, daß es oft zu stark verrieben wird und dadurch Hautwunden verursachen kann. Daraus ergaben sich noch die Aufgaben, die Eigenschaften und Reizwirkung der so unfachgemäß zubereiteten Breie zu überprüfen, weiter eine solche Applikationsart auszuarbeiten, welche eine Möglichkeit von starkem Einreiben herabsetzen würde.

Als Maß für Chlorkalkpulver und Wasser benutzten wir in diesbezüglichen Versuchen einen Suppenlöffel. Er faßt durchschnittlich etwa 15 ccm Wasser, gehäuft etwa 24,5 g Chlorkalk, gestrichen 6 g. Wir übertrugen einen gehäuften Löffel von Chlorkalkpulver in eine Schale und fügten 1—2 Löffel Wasser hinzu. Mit dem Löffel mischten wir das Gemisch so lange, bis es möglichst gleichmäßig war. Bei früheren Versuchen beobachteten wir, daß die Benutzung eines größeren Tampons oft zu stärkerem Einreiben verleitet. Darum benutzten wir hier zum Einreiben nur einen kleinen Wattebausch, der auf einem Holzstäbchen (Speil) aufgewickelt und leicht mit Wasser befeuchtet war. Die Befeuchtung wird deshalb vorgenommen, da die trockene Watte dem Brei Wasser entzieht und ihn dadurch eindickt. Diese Art erwies sich als vorteilhaft. Statt gewaltsamen Einreibens wird hier eher nur das erwünschte Vermischen und Verreiben des Breies auf der Haut durchgeführt. Bei stärkerem Druck bricht das Stäbchen und damit ist auch die Gefahr der Entstehung tiefer Exkoriationen bedeutend verringert.

Die Versuche führten wir mit vier verschiedenen Chlorkalkproben aus, deren Gehalt an wirksamem Chlor in Prozenten absteigend 25,3 -24,95 —24.74 und 24,04 betrug. Es zeigte sich, daß bei dieser laienhaften Zubereitung der Kalk nie so gleichmäßig verteilt war, wie bei der in vorausgehenden Versuchen durchgeführten pharmazeutischen Art (Reibschale und Pistill). Das Gemisch hatte eine grobkörnige Struktur und enthielt zahlreiche verbackene Körnchen von Stecknadelkopfgröße, die nicht weiter zerrieben werden konnten. Man muß daher erwarten, daß auch die sandartigen Bestandteile des Chlorkalks auf die Haut rein mechanisch stärker einwirken werden. — Auch die Bindung des Wassers und die Konsistenz des Gemisches bei einem bestimmten Verhältnisse der Bestandteile sind unter diesen Umständen andere als bei pharmazeutisch bereiteten

Breien. Wenn wir auf Laienart 1 gehäuften Löffel Chlorkalk mit 2 Löffeln Wasser vermischen, so entsteht ein etwa 44%iges Gemisch. Seine Grundkonsistenz ist immer flüssig, es enthält zahlreiche unzerteilte Körnchen. In dieser Form ist es aus Gründen, die wir schon früher anführten, zur Applikation auf die Haut nicht gut geeignet. Erst bei einem Verhältnisse von einem gehäuften Löffel Chlorkalk mit einem Löffel Wasser (das ist etwa 60% Chlorkalk) entsteht in der Mehrzahl der Fälle ein für die erste Hilfe geeigneter zäherer Brei. Ist der entstandene Brei zu zähe und trocken, so fügen wir etwas Wasser hinzu. Ist er flüssig (was auch hierbei vorkommt), so fügen wir etwas Chlorkalkpulver bei.

Die nach dieser Vorschrift hergestellten breiförmigen Gemische wurden in 12 Versuchen an der Haut fein verrieben. Die Zeit der Applikation bewegte sich zwischen 5 und 15 Minuten. Die Reizwirkung kam auch hier sehr ungleichmäßig zum Ausdruck. Die Benutzung der oben beschriebenen kleinen Wattetampons auf einem Holzstäbchen verminderte jedoch klar die Möglichkeit der Anwendung eines stärkeren Druckes gegenüber der früher gebrauchten großen feuchten Wattetampons, so daß auch die Gefahr der Hautverletzung im allgemeinen herabgesetzt war. Ein 5 Min. langes schwaches Verreiben wurde in 4 Fällen ohne bedeutsame Reaktion vertragen, in 2 Versuchen entstanden dabei Mazerationen und eine nicht zu starke papulöse Dermatitis mit späterer Entwicklung der disseminierten Petechien. Gelegentlich können jedoch auch längere Verreibungen mit einer nur belanglosen Reaktion vertragen werden. Exkoriation wurde bis nach einem 15 Min. langen Verreiben beobachtet. Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß mit einem auf Laienart zubereiteten zähen Chlorkalkbrei bei schonender Applikationsweise im allgemeinen ein nicht für länger als 3—4 Min. dauerndes Verreiben empfohlen werden kann, wenn auch manchmal eine bedeutend längere Anwendung keine ernstere Schädigung hervorruft. In jedem Falle gibt das Auftreten von Hautbrennen Anlaß zur sofortigen Entfernung des Chlorkalkbreies.

Zusammenfassung.

1. Wir studierten die Wirkung, die der Chlorkalk in Pulver- und Breiform auf die normale menschliche Haut des Unterarms ausübt. Zweck der Arbeit war, die bestehenden Vorschriften über die Benutzung des Chlorkalks zur Assanation der mit Senfgas benetzten Haut zu ergänzen.

2. 15 in 12 verschiedenen Apotheken gekaufte Chlorkalkproben hatten absteigend folgenden Prozentgehalt an aktivem Chlor: 32,55—29,29—29,29—28,36—26,97—26,15—24,5—23,75—23,64—19,16—17,65—17,42—16,41—15,76—0,54. Den von dem Arzneibuch vorgeschriebenen Gehalt von 25% Chlor hatten also nur 6 Proben. Der Gehalt an festen, in verdünnter Essigsäure unlöslichen Bestandteilen bewegte sich bei 10 Proben zwischen 2,1 und 5,8%.

3. Das erste beim Verreiben des Chlorkalks auftretende Symptom einer Reizwirkung auf die Haut ist gewöhnlich ein Gefühl des Brennens. Entfernt man den Chlorkalk von der Haut sofort nach Beginn des Brennens, so entsteht nur ein Erythem oder höchstens eine im ganzen bedeutungslose Mazeration, Dermatitis und später Petechien. Prolongiertes Einreiben hat Exkoriationen und punktförmige bis flächenhafte Blutungen zur Folge.

4. Mäßiges Abreiben der Haut in der Dauer von 3—20 Minuten mit trockenem Chlorkalk wurde ohne Schädigung vertragen.

5. Chlorkalkbrei beschädigt die Haut sehr leicht. Er soll immer so dicht bereitet werden, daß er vom Löffel nicht abfließt. Er kann ohne Verreiben für 10 Min. (ev. bis 15 Min.) aufgelegt werden. Das Verreiben oder gar Einreiben erhöht die Reizwirkung des Breies erheblich. Er darf vorsichtig etwa 3—4 Min. leicht verrieben werden, höchstens bis zum Gefühl des Brennens.

Thyroxin und Herzwirkung.

Von

Hellmut Bauer

(Chirurgische Universitäts-Klinik Freiburg i. Br.).

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. Juli 1939.)

Die oft gestellte Frage nach charakteristischen EKG-Veränderungen bei sogenannten hyperthyreotischen Zuständen betrifft ein schwieriges Problem, weil einmal die klinische Abgrenzung dieser Krankheitsbilder nicht immer möglich ist und zum anderen sind die gefundenen EKG-Veränderungen oft so gering und uneinheitlich, daß Schlußfolgerungen kaum zu ziehen sind. Findet sich einmal mehr, so ist zu bedenken, daß es sich bei diesen Erkrankungen meist um jahrelang dauernde Zustände handelt, die erst allmählich zu einer Verschlechterung der Herzfunktion und damit ausgeprägteren Veränderungen der Herzstromkurve führen und man dann im EKG nur den Folgezustand der allgemeinen thyreotoxischen Vergiftung des Organismus annehmen darf, die ja erst im Laufe der Zeit infolge der unzweckmäßigen Arbeitsweise zu einer Überbelastung von Herz und Kreislauf führt. Eine direkte Beeinflussung des Herzens durch ein eventuell mehr ausgeschüttetes Schilddrüsenhormon erscheint doch recht fraglich, da Herzstörungen bei diesen Erkrankungen im allgemeinen eben erst recht spät beobachtet werden und sich dann oft EKG-Veränderungen zeigen, wie wir sie auch unter anderen Zustandsbedingungen finden, bei denen keine Thyreotoxikose besteht.

Um im Tierexperiment ähnliche Zustandsbedingungen zu schaffen, stehen uns zwei Wege zur Verfügung. Wir können entweder die Wirkung übertreiben indem wir eine stärkere Vergiftung durch große Dosen verursachen, dabei kommt uns die raschere Entwicklung der Vergiftung für eine Prüfung der direkten Herzwirkung zugute oder durch wiederholte kleine Dosen, über längere Zeit gegeben, versuchen ähnliche Bedingungen zu setzen wie im Falle einer Hyperthyreose.

Die Fragestellung und Ergebnisse dieser Arbeit ergaben sich aus Versuchen, die angestellt worden waren, um die Digitalisempfindlichkeit myocardgeschädigter Herzen zu prüfen. Durch Verfütterung oder wiederholte Injektionen von Schilddrüsenstoffen kann es bei Meerschweinchen, Kaninchen und Katzen zu morphologischen Veränderungen im Herzmuskel kommen (Nicolini, Heinlein und Dieckhoff, Farrant). Für unsere Untersuchungen wurden deshalb eine Reihe von Katzen mit Thyroxin vorbehandelt. Während dieser Vorbehandlung, die sich teilweise über mehrere Wochen erstreckte, wurden die Tiere fortlaufend durch das EKG

kontrolliert. Der eigenartige Vergiftungsverlauf bei diesen Tieren führte dazu, die Versuchsreihen zu erweitern und durch Versuchsserien, die nur den Zweck hatten, die Thyroxinwirkung zu beobachten, zu ergänzen. Die Ergebnisse der Herzstromkurven wurden in Beziehung gebracht zum Verlauf einer Thyroxinvergiftung und der Herzwirkung einerseits und zu den gefundenen morphologischen Veränderungen im Herzmuskel andererseits.

Versuchsanordnung.

Bei den Versuchen ist zu trennen zwischen denen, die mit einmaligen und denen, die mit wiederholten Dosen angestellt worden sind. Die Größenordnung der einmaligen Dosen schwankte zwischen 2,8—11,1 mg/kg, die der wiederholten Dosen zwischen 0,125—1,5 mg/kg Thyroxin. Als Substanz wurde Thyroxin Schering und La Roche verwendet. Die Substanz wurde als Natriumsalz subcutan oder intravenös injiziert. Unterschiede durch die verschiedene Art der Gabe wurden dabei nicht beobachtet, besonders nicht für den Beginn der Wirkung. Die von uns anfangs angewandte Äthernarkose (Narkoseäther) erwies sich bald als wenig geeignet, indem trotz aller Vorsicht sehr leicht Narkosetod eintrat. Wir gingen deshalb, wenn Narkose erforderlich war, zu einer leichten Numal oder Avertinnarkose über. Die Erscheinung der Ätherempfindlichkeit entspricht den Erfahrungen der Klinik bei Thyreotoxikosen. Betreffs der weiteren Versuchsanordnung verweisen wir auf die Arbeiten von Bauer sowie Bauer und Reindell.

I. Allgemeiner Verlauf einer Thyroxinvergiftung.

Das Vergiftungsbild durch Schilddrüsenstoffe ist oft beschrieben worden, insbesondere das der Nagetiere und Hunde. Weniger bekannt ist das von Katzen. Wir können uns auf wenige Angaben beschränken, da grundsätzlich bei allen Warmblütern mehr oder weniger dieselben klinischen Erscheinungen beobachtet wurden. Nach größeren Dosen zeigt sich regelmäßig das Bild einer sogenannten Hyperthyreose: Pulsbeschleunigungen, Gewichtsabnahme, Haarausfall, Durchfälle, motorische Unruhe, sehr starke Freßlust. Dazu kommt eine Verschlechterung des Allgemeinzustands, der allmählich einsetzt und fortschreitet. Die anfängliche Lebhaftigkeit wird zur Stumpfheit und Apathie, die Bewegungen werden matt und ziellos. Häufig sieht man sogar Tremor und Krämpfe auftreten, denen dann bald der Tod nach aufsteigender Lähmung folgt.

Wenn auch die Vergiftung mit einer Schilddrüsensubstanz immer ähnliche Bilder zeigt, so muß dabei doch berücksichtigt werden, daß die Versuchsbedingungen hierbei oft sehr verschieden waren. Es erscheint deshalb zweckmäßig, wenn wir zunächst im Rahmen unserer Versuchsbedingungen den Vergiftungsverlauf nach Thyroxin besonders betrachten. Seine Kenntnis erleichtert eine vergleichende Stellungsnahme zu den

elektrokardiographischen und morphologischen Befunden. Wir beschränken uns bei der Schilderung auf einige leicht faßbare Wirkungssymptome. Dies sind die Gewichtsabnahme und die äußerlich zu beobachtenden klinischen Erscheinungen.

1. Die Wirkung einmaliger Dosen.

Die Verträglichkeit von einmaligen hohen Dosen einer Schilddrüsensubstanz ist seit Beginn der ersten Untersuchungen bekannt. Sie wurde schon 1898 durch Hellin bei Versuchen an Kaninchen festgestellt. Im Laufe der Zeit wurde diese Erfahrungstatsache dann bei nahezu allen verwendeten Tierarten immer wieder festgestellt. Im Gegensatz dazu steht die Wirkung wiederholter Dosen, bei denen man im Vergleich mit der Wirkung einmaliger Dosen, schon bei verhältnismäßig geringer Gesamtmenge, schwere Vergiftungen beobachten kann. Im Schrifttum wird immer wieder auf die gute Verträglichkeit und verhältnismäßig geringe Wirkung einmaliger hoher Dosen von Schilddrüsenstoffen hingewiesen. Wenn auch das erste zutrifft, so ist jedoch bei genügend langer Beobachtungszeit, nach einmaligen Dosen oft eine starke Wirkung festzustellen. Dies hängt mit dem durch Schilddrüsenstoffe verursachten Vergiftungsverlauf zusammen. Das Eigenartige bei jeder Zufuhr von Schilddrüsensubstanzen ist die ungewöhnlich lange Latenzzeit bis zum Auftreten der Wirkungssymptome. Entsprechend diesem langsamen Wirkungsanstieg besteht auch meist eine auffallend lange Nachwirkung.

In der nachfolgenden Tabelle 1 geben wir die Ergebnisse einiger Versuche mit einmaligen Dosen unter besonderer Berücksichtigung der Gewichtsverhältnisse wieder.

Tabelle 1. Die Wirkung einmaliger Thyroxindosen.

Nr.	Thyroxindose in mg/kg	Ausgangsgewicht in g	Gewichtsabnahme					Spätere Kontrolle in %	Tage	
			erste stärkere in g	nach Tagen	stärkste in g	in %	nach Tagen			
131	11,1	3800	3300	4	2930	23	8	— 13	(28)	
108	5,0	2700	keine	—	keine			— 17	(15)	Narkosetod
101	5,0	1600	—	—	1400	42	4	— 12	(4)	an Vergiftung gestorben
102	4,5	2200	1800	6	1500	35	15	— 35		aus der Reihe entnommen
107	4,5	2700	2310	4	2015	25	9	— 15	(18)	n. 16 Tag. —11%
104	3,0	2660	keine	—	2390	10	7	— 4	(15)	
103	2,8	1770	1520	4	1400	20	8	— 7	(15)	

Die ersten Wirkungen, die wir nach einer Injektion beobachteten, zeigten sich frühestens nach 24—48 Stunden; in einem Falle, nach einer sehr großen Dose, schon nach 12 Stunden. In diesem Zeitpunkt sah man bei vielen Tieren eine allgemeine Schlappheit, Freßunlust, die manchmal

bis zur Verweigerung der Nahrung ging, und Unsauberkeit, bei noch gut erhaltenen Abwehrreaktionen (z. B. Aufschnallen zum EKG nur in Narkose). Fraßen die Tiere noch gut, so war der Allgemeinzustand besser, und es konnte zwischen solchen und normalen nur wenig Unterschied festgestellt werden. An gewissen kleinen Dingen, wie Unsauberkeit, verminderte Lebhaftigkeit war noch eine Wirkung zu erkennen. Am 3. und 4. Tag nach der Injektion begannen die Tiere, die anfangs eine stärkere Wirkung gezeigt hatten, wieder sehr heißhungerig zu fressen und auch bei denen, die immer gefressen hatten, zeigte sich meist eine Steigerung des Hungers. Trotzdem setzte in diesen und den folgenden Tagen eine stärkere Gewichtsabnahme ein (102, 107, 103). Dieser Gewichtssturz ist etwas Charakteristisches im Laufe einer Thyroxinvergiftung. Es handelt sich hier um eine plötzlich auftretende stärkere Gewichtsabnahme, die gegenüber den fortlaufenden Abnahmen nach der Injektion immer verhältnismäßig größer war, d. h. in diesen kritischen Tagen nahm ein Tier z. B. 200 g ab, während bis jetzt und in der Folge die täglichen Abnahmen zwischen 50 und 100 g schwankten. Schwankungen unterhalb 100 g werden auch bei normalen Tieren beobachtet und können deshalb, wenn sie nicht fortlaufend erfolgen, unberücksichtigt bleiben. Die zahlreichen Gewichtskurven im Schrifttum erübrigen eine Wiedergabe. Der Allgemeinzustand bei den meisten dieser Tiere war weiter schlecht, sie waren schreckhaft, zeigten motorische Unruhe, oft trat Durchfall auf. Das Gewicht nahm bis zum 8.—10. Tag weiterhin ab, um dann langsam unter Besserung des Allgemeinzustands wieder anzusteigen (vgl. Spalte 6 und 9). Bei besonders starker Wirkung (102) konnte die Gewichtsabnahme auch noch länger anhalten (über 3 Wochen).

Besonders erwähnen möchten wir den Fall Nr. 131. Es handelte sich hier um eine intravenöse Infusion von Thyroxin unter fortlaufender Kontrolle durch das EKG. Der Versuch wurde nach Zufuhr von 43 mg Thyroxin (11,1 mg/kg) abgebrochen. Hier zeigte sich schon nach 12 Stunden eine ganz besonders starke Vergiftung. Das Tier war seitenlägerig, reagierte kaum auf irgendwelche Reize, ließ sich ohne Narkose zum EKG aufschnallen. Wir gaben 2 Tage lang Coramin und ernährten mit der Pipette. Nach 60 Stunden war das Tier wieder munter und fraß große Mengen. Die Gewichtsabnahme hielt weiterhin an. Ein stärkerer Gewichtssturz zeigte sich am 4. Tag. Nach 3 Wochen betrug der Gewichtsverlust noch 13 % des Anfangsgewicht (500 g!).

Das Auftreten der ersten stärkeren Gewichtsabnahme zeigte zeitlich eine gewisse Gleichmäßigkeit, während bei den anderen klinischen Symptomen größere Schwankungen vorkamen.

Wir fassen zusammen: Nach einer Latenzzeit von 24—48 Stunden erste Wirkungen, nach 4—7 Tagen Gewichtssturz. Die Erholung erfolgt langsam im Laufe von mehreren Wochen. Ausnahmen sind Tod an der Vergiftung (101).

2. **Wiederholte Thyroxindosen** (1,5; 1,0; 0,5; 0,25; 0,125 mg/kg).

Wie die angeführten Dosierungen zeigen, haben wir dieselben weitgehend abgestuft, um auch den therapeutischen Dosierungen etwas nahe zu sein. Wir glauben mit unseren Dosierungen diesen immer noch viel näher zu sein, wie jene zahlreichen Versuche, in denen z. B. Ratten täglich 1—2 mg Thyroxin verabreicht wurde. Entsprechend hätten wir 10 bis 15 mg/kg geben müssen.

Tabelle 2 ist in vier Gruppen eingeteilt:

1. Tiere, die nach wenigen Teildosen starben.
2. Tiere, die 5—8 Teildosen erhielten.
3. Tiere, die über 8 Teildosen erhielten.
   Zu beachten sind solche, die innerhalb der Teildosengabe und solche, die nach Absetzen der Injektionen starben.
4. Tiere, die verschieden hohe Teildosen erhielten.

Diese Einteilung ergab sich aus der Erfahrung, daß auch bei den wiederholten Dosen (eintägiger Abstand), die bei einmaligen Dosen beobachteten kritischen Zeiten um den 4.—6. Tag herum Bedeutung haben.

Entgegen der guten Verträglichkeit von verhältnismäßig hohen einmaligen Dosen beobachtet man bei wiederholten Dosen sehr starke individuelle Schwankungen.

Gruppe 1 zeigt, daß bei den größeren und selbst kleinsten Dosierungen manche Tiere schon nach wenigen Teildosen starben. Auffallend war hierbei, daß weder klinisch noch im EKG, noch bei der Sektion irgendwelche Veränderungen, die eine Erklärung für den frühzeitigen Tod hätten geben können, gefunden wurden. Das Alter bzw. das Gewicht spielte hierbei keine Rolle.

Die Gruppe 2 enthält Versuche von 5—8 Teildosen. Entgegen den Beobachtungen nach einmaligen Dosen findet man hier als erste stärkere Wirkung eine Gewichtsabnahme mit Gewichtssturz nach 4—6 Tagen, und dann erst treten andere Wirkungssymptome auf (Spalte 10) Aus der geringen Gewichtsabnahme (9—13 %) und den anderen klinischen Erscheinungen sind bei den Tieren, die innerhalb der Injektionen starben, keine Schlüsse auf die Schwere der Vergiftungen zu ziehen. Diese Tiere fraßen meist bis kurz vor dem Tod. Tiere, die die Injektionen einige Zeit überlebten, zeigten meist ein schweres Vergiftungsbild, das individuell stark schwankte. Gewichtsabnahme und andere klinische Symptome zeigten keine gegenseitigen Beziehungen.

In Gruppe 3 handelt es sich um kleinere Dosen, nach welchen die Vergiftungen gleichmäßiger verlaufen. Die Latenzzeit, bis eine stärkere Wirkung auftritt, ist hier entsprechend länger (aber auch hier zuerst Gewichtsabnahme vor den anderen klinischen Erscheinungen). Nach kleinen

Tabelle 2. Die Wirkung wiederholter Thyroxindosen.

Nr.	Dose in mg/kg	Gesamtdose in mg/kg	Beginn stärkerer Gewichtsabnahme nach Tagen	Gewichtsabnahme am Ende der Injektionen in %	Gewichtsabnahme nach Tagen	Gewichtsabnahme Spätere Kontrolle in %	Nach Tagen	Zahl der Tage zwischen Ende der Injektionen und Tod oder Versuchsentnahme	Klinische Beobachtungen
				Gruppe 1.					
120	1,0 × 4	4,0	4	18	4	25	7 †	3	Immer munter, frißt bis kurz vor dem Tod
50	1,0 × 3	3,0	—	—	—	—	4 †	1	Nach 3 Tagen schlapp, frißt nur noch wenig
118	1,0 × 2	2,0	—	—	—	—	3 †	1	Wie Nr. 120
83	0,5 × 3	1,5	4	10	3	21	5 †	2	Nach 4 Tagen schlapp, frißt nicht mehr
117	1,0 × 3	3,0	—	3	3	6	4 †	1	Wie Nr. 120
75	0,5 × 2	1,0	—	—	—	6	3 †	1	Scheues Tier, fraß von Anfang an kaum, sonst o. B.
10	0,5 × 2	1,0	—	—	—	—	3 †	1	Junges Tier, etwas elend von Anfang an
100	0,4 × 2	0,8	—	—	—	—	3 †	1	Wie Nr. 120
19	0,25 × 3	0,75	—	13	3	—	3 †	0	Wie Nr. 120
30	0,125 × 2	0,25	—	—	—	—	3 †	1	Wie Nr. 120
				Gruppe 2.					
105	1,5 × 8	12,0	5	24	8	30	11 †	4	Nach 5 Tagen Freßunlust, nach 6 Haarausfall, nach 8 nichts mehr gefressen
111	1,0 × 8	8,0	5	11	8	35	21	14	Nach 6 Tagen Freßunlust, nach 9 frißt wieder, nach 10 Durchfall
20	1,0 × 8	8,0	keine	13	8	17	9 †	1	Nach 8 Tagen etwas schlapp, sonst o. B.
112	1,0 × 6	6,0	6	10	6	11	7 †	1	Immer munter bis 7. Tag
119	1,0 × 5	5,0	5	12	5	16	6 †	1	4 Tage etwas schlapp, frißt immer
115	1,0 × 5	5,0	keine	9	5	15	6 †	1	Immer munter, frißt bis kurz vor dem Tod
51	0,8 × 6	4,8	?	?	—	18	8	2	Nach 7 Tagen schlapp, frißt immer
81	0,5 × 7	3,5	?	19	8	25	11	3	Nach 8 Tagen schreckhaft, frißt immer gut
82	0,5 × 7	3,5	5	20	8	20	11	3	Nach 5 Tagen lebhaft, nach 6 Erbrechen, schlapp, nach 10 sehr schlapp, frißt aber
113	0,5 × 7	3,5	4	22	7	22	7 †	0	Wie Nr. 115
116	0,25 × 6	1,5	5	17	6	20	8 †	2	Nach 6 Tagen Erbrechen, frißt immer
31	0,125 × 5	0,62	4	23	5	23	5 †	0	Wie Nr. 115

† = gestorben.

Tabelle 2 (Fortsetzung).

Nr.	Dose in mg/kg	Gesamtdose in mg/kg	Beginn stärkerer Gewichtsabnahme nach Tagen	Gewichtsabnahme am Ende der Injektionen in %	Gewichtsabnahme nach Tagen	Gewichtsabnahme Spätere Kontrolle in %	Nach Tagen	Zahl der Tage zwischen Ende der Injektionen und Tod oder Versuchsentnahme	Klinische Beobachtungen
				Gruppe 3.					
15	0,4 × 34	14,6	21	28	35	40	49 †	14!	Nach 14 Tagen Durchfall, frißt immer
17	0,25 × 35	7,7	15	36	48	—	48 †	0	Nach 24 Tagen Durchfall, nach 26 Haarausfall, nach 44 stumpf, apathisch, nach 46 frißt nicht mehr
18	0,25 × 22	5,5	6 u. 16	34	28	—	28 †	0	Nach 26 Tagen schlapp, Freßunlust, bis dahin o. B.
122	0,25 × 12	3,0	9	32	15	40	26 †	9	Nach 7 Tagen frißt wenig, nach 8 schlapp, frißt wenig, nach 16 Erbrechen, vom 12—26. Tag gut gefressen
125	0,25 × 12	3,0	5	36	15	43	20 †	5	Nach 8 Tagen schlapp unruhig, nach 16 Seitenlage, nach 17 weitere Verschlechterung, frißt nicht mehr, erbricht, nach 18 frißt wenig, nach 19 erholt, nach 20 Seitenlage
				Gruppe 4.					
	I. Versuch:								
78	1,0 × 2	} 7 Tage Pause							I. Versuch: nach 21 Tagen schlapp, nach 23 unruhig, nach 25 erholt, frißt immer. II. Versuch: nach 6 Tagen Haarausfall, vom 8. Tag ab nicht mehr gefressen, künstlich ernährt. Pause zwischen I. und II. Versuch 3 Wochen, 10% Gewichtsabnahme
	1,0 × 4	} 10 Tage Pause							
	1,0 × 11								
		17,0 mg	keine	+ 23	34	—	—		
	II. Versuch:								
77	1,5 × 8	12,0 mg	6	11	8	33	14 †	6	
	1,0 × 2	} 7 Tage Pause							Immer munter, gefressen bis zur Entnahme aus der Reihe
	1,0 × 5								
		7,0 mg	keine	23	14	—	14		
97	1,0 × 2	} 7 Tage Pause							Immer munter, gefressen bis zur Entnahme aus der Reihe.
	1,0 × 5								
		7,0 mg	keine	8	14		14		

† = gestorben.

Dosen kann es trotz weiterer Zufuhr im Laufe einer Vergiftung vorübergehend zu einer Gewichtszunahme kommen, der wieder ein Gewichtssturz folgt (18).

Die Gruppe 4 enthält Versuche, bei welchen die zeitlichen Abstände der Teildosen über 1 Tag vergrößert wurden. Dies kann zu vorübergehenden Erholungen führen und sogar zu sehr geringen Wirkungen überhaupt (78, Gewichtszunahme!).

Zusammenfassend ergibt sich aus den vorstehenden Versuchen: Stirbt ein Tier nach weniger als 5 Teildosen, so ist der Vergiftungsverlauf durch keine praktisch erfaßbaren Vergiftungssymptome gekennzeichnet. Aber auch bei mehr Teildosen (5–8), wobei die Versuchsdauer mindestens 5—8 Tage dauerte, sind in vielen Fällen die Wirkungssymptome nur schwach und der Tod kann überraschend aus scheinbarem Wohlbefinden erfolgen. Selbst bei den größeren Teildosen zeigen sich bei einem Teil der Versuchstiere erst ungefähr nach 1 Woche ausgeprägte charakteristische Vergiftungssymptome einer Thyroxinvergiftung, die beim Überleben über den 8. Tag, auch nach Absetzen der Injektionen, sich zu einem höchst eindrucksvollen Vergiftungsbild entwickeln kann. Nach kleineren Teildosen ist das Vergiftungsbild, im ganzen betrachtet, gleichmäßiger. Es erfolgt eine allmähliche Gewichtsabnahme bis zum Tode. Diese fortschreitende Verminderung des Gewichts ist oft noch lange Zeit nach Absetzen der Injektionen zu beobachten. Tritt eine Erholung ein, so dauert es 4—6 Wochen, bis das Ausgangsgewicht wieder erreicht ist. Jedoch auch diese Vergiftungen zeigen zum Teil erhebliche individuelle Unterschiede, wie die verschiedenen Zahlen der verträglichen gleichen Teildosen zeigen.

II. Elektrokardiographische Veränderungen.

Die Angaben über elektrokardiographische Veränderungen nach experimentellen Vergiftungen mit Schilddrüsensubstanzen sind spärlich. Meist handelt es sich um Angaben allgemeiner Natur und genauere Messungen fehlen. Auch sind Tierart und Versuchsbedingungen sehr wechselnd. Da wir für die für uns wichtige Katze ähnliche Versuche in dem uns zugänglichen Schrifttum nicht gefunden haben, können wir nicht vergleichen.

Im klinischen Schrifttum finden sich zahlreiche Arbeiten, die sich zum Teil nur mit den EKG-Veränderungen bei hyperthyreotischen Zuständen beschäftigen, oder aber innerhalb der Betrachtungen über Kreislauf und Thyreotoxikose, dem EKG einen besonderen Abschnitt widmen. (Hoffmann, Parade, Parade und Haas, Parade und Foerster, Strübell, Bickel und Frommel, Kämmerer und Obermaier, Goodal und Rogers, Miske und Schöne u. a.)

Wenn auch bei diesen Abhandlungen bevorzugt das Basedowherz betrachtet wird, so handelt es sich in der Klinik bei den sogenannten

hyperthyreotischen Zuständen meist doch um Krankheitsbilder, die sich nicht immer genau gegeneinander abgrenzen lassen, und es finden sich fließende Übergänge, z. B. vom Basedow zu den Thyreotoxikosen und umgekehrt. Die Mitteilungen über EKG-Veränderungen umfassen daher auch immer alle Erkrankungen der sogenannten Schilddrüsenüberfunktionen. Der Vergleich unserer ähnlichen Vergiftungen am Tier mit Ergebnissen, die bei Thyreotoxikosen gefunden wurden, scheint uns deshalb erlaubt, da wir aus Mangel an anderen Unterlagen geradezu dazu gezwungen sind. Wir sind uns dabei bewußt, daß es hier auf Grund der bei Tierversuchen immer vorhandenen Unvollkommenheit (Nadelelektroden), Labilität der Herzlage usw. nur um gröbere und keine feineren Einzelheiten gehen kann. Darum verzichten wir auf eine Erörterung von Lagetypen, Systolenlänge (keine Formel für die Katze) und andere feinere Einzelheiten. Die Sicherheit der nachgewiesenen Veränderungen liegt bei diesen Tierversuchen nicht in den EKG-Veränderungen des einzelnen Versuchs, sondern in den gleichen Veränderungen bei einer großen Zahl von Versuchstieren.

Betrachten wir zunächst kurz die Ergebnisse der Klinik. Einer der regelmäßigsten und am frühesten auftretenden Befunde ist die Beschleunigung der Herzfrequenz. Jedoch sind auch Bradycardien beobachtet worden, bei erheblich erhöhtem Grundumsatz. Bei den Beschleunigungen sind ausgesprochen hohe Schlagzahlen (über 110) in Ruhe selten. Die von manchen Untersucher öfters beschriebenen Sinusarrhythmien werden von anderen wieder als selten bezeichnet. Einen großen Raum nehmen die Veränderungen der *P*- und *T*-Zacke ein. Entgegen den kleinen und abgeflachten *P*- und *T*-Zacken bei Hypothyreosen wird bei Hyperthyreosen als häufigste Veränderung eine Erhöhung dieser Zacken angegeben. Doch sind auch hierüber die Befunde nicht einheitlich. So fanden z. B. Misske und Schöne diese Erscheinung bei 12% ihrer Fälle, damit verbunden war meist eine Frequenzbeschleunigung. Aber auch ebenso oft wurde diese Erhöhung bei Nicht- und Anderskranken festgestellt. Hohe *T*- und *P*-Zacken werden z. B. oft bei nervösen Menschen gefunden und hohe *T* z. B. bei Magenulkus. Keine Gesetzmäßigkeiten für *T* aber durchschnittlich vergrößerte *P* geben eine Reihe von anderen Untersuchern an (Parade und Förster, Bickel und Frommel, Kämmerer und Obermaier u. a.). Bei allen Arten von Thyreotoxikose wurden daneben immer wieder auch besonders flache *P* und *T* beobachtet. Die häufigste Form der Rhythmusstörung ist das Vorhofsflattern und Flimmern, besonders bei fortgeschrittenen Thyreotoxikosen. Ältere Kranke sind dabei nach den meisten Angaben bevorzugt. Die Mitteilungen über die Dauer dieser Erscheinungen und besonders ob sie anfallsweise auftreten sind wieder sehr uneinheitlich. Jod behandelte Kranke sollen hierbei in der Mehrzahl sein. Über absolute Arrhythmien wird von fast allen Untersuchern berichtet. Andere

Veränderungen im EKG sind so selten, daß man sie nicht als charakteristische Veränderungen bezeichnen kann. Reizleitungsstörungen sind nur vereinzelt beobachtet worden. Es werden Sinusblockierung, ferner auch totale Blocks und intraventrikuläre Leitungsstörungen beschrieben. Eine Verbreiterung des Kammerkomplexes wird öfters erwähnt. Extrasystolen werden teilweise als selten, zum Teil aber auch als sehr häufig vorkommend mitgeteilt. Als seltenere Veränderungen sind noch zu erwähnen Senkungen von *ST* und *T*. Für die Überleitungszeit wurden teils Verkürzungen, aber auch Verlängerungen festgestellt, manche Untersucher fanden auch keinerlei Veränderungen.

Die Systolendauer wurde überwiegend in Übereinstimmung mit den dafür aufgestellten Formeln von Friderica und Bazett und damit unverändert gefunden. Jedoch wird auch angegeben, daß die Systolendauer bei Basedowtachycardien im Vergleich zu anders bedingten verkürzt sei. Aber diese Veränderungen sind als differentialdiagnostische Zeichen nach Ansicht der meisten Untersucher nicht verwertbar. Wir begnügen uns mit der kurzen Aufzählung dieser Ergebnisse, die zeigt, wie uneinheitlich noch die EKG-Befunde bei sogenannten Hyperthyreosen sind.

1. Die Wirkung des Thyroxins auf die Herzfrequenz.

Bei allen Thyreotoxikosen und Vergiftungen mit Schilddrüsenstoffen spielt das Verhalten der Frequenz eine große Rolle. Eines der regelmäßigsten Wirkungssymptome ist die Beschleunigung der Herzschlagfolge. Wir geben nachfolgend in Tabelle 3 eine Zusammenstellung der ausgemessenen und umgerechneten EKG-Werte von *Q* *Q* wieder.

Betrachten wir zunächst den Beginn der Frequenzbeschleunigung, so können wir dabei feststellen, daß mit wenig Ausnahmen innerhalb der ersten 24 Stunden eine Beschleunigung auftritt, die bei den höheren einmaligen Giftangeboten (131, 104, 101) schon gleich sehr stark ist. Bei den kleineren einmaligen Dosen (107, 104, 103) erfolgt diese stärkere Beschleunigung erst nach 2 Tagen, bei den wiederholten Dosen teilweise noch später. Eine stärkere Beschleunigung (Tachycardie), die fast in allen Versuchen auftritt, dauert verschieden lang. Wir beobachteten sie 1—10 Tage lang. Im Anschluß an die auftretende Tachycardie erfolgt wieder eine Verlangsamung (auch bei weiteren Teildosen), jedoch in den meisten Fällen wird die Ausgangsfrequenz nicht wieder erreicht, so daß im ganzen betrachtet eine geringe Beschleunigung vorherrscht. Es gab noch besondere Fälle, bei denen wir so gut wie gar keine Wirkung auf die Frequenz sahen. Hierbei handelte es sich um besonders unempfindliche Tiere (107, 105, 78). Hervorzuheben ist die Dauer einer auftretenden Tachycardie, denn bei allen Tieren, bei denen eine Tachycardie länger als 5 Tage beobachtet wurde, fanden sich morphologische Veränderungen

Tabelle 3. Das Verhalten der Frequenz, gemessen in $Q-Q$ ($^1/_{100}$ Sek.) und umgerechnet in Schläge pro Minute.

Nr.	Dose Thyroxin in mg/kg	Ausgangs-frequenz pro Min.	Nach Tagen																	
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	43	45	48
108	5	214	231	240	300	240	240	231	240	240	240	240										
101	5	200	286	300																		
102	4,5	200	214	154	214	240	240	250	300	273	286	250	240	—	—	214						
107	4,5	171	187	240	200	222	207	214	214	193	214	171	214	214	214	200						
104	3	240	240	300	300	300	300	300	300	250	250	240	240	—	261	240						
103	2,8	207	231	286	261	250	261	250	300	261	250	240	240	—	—	240						
105	1,5 × 8	240	240	240	240	261	261	261	261	222	240	240	300									
111	1,0 × 8	240	240	286	286	300	316	—	429 ?	—	—	—	—	—	—	200						
78	1,0 × 8	300	300	300	300	300	300	300	300	300	261	240	240									
81	0,5 × 7	171	171	—	—	—	—	—	—	231	—	—	—	—	—	—	—	286				
113	0,5 × 7	240	240	261	300	250	240	240	240													
116	0,25 × 6	200	214	222	231	240	240															
15	0,4 × 34	182	200	—	—	261	261	—	300	261	250	—	—	250	—	—	—	—	286	286		
17	0,25 × 35	200	—	—	—		240	—	273	—	—	—	—	—	286	—	—	—	200	—		
18	0,25 × 22	300	300	261	300	300	—	—	—	—	—	—	—	—	—	300		—	—	—	300	
122	0,25 × 12	240	240	—	—	—	—	—	273	—	261	—	—	—	—	300	—	316				
125	0,25 × 12	193	—	—	—	—	—	—	250	—	—	—	—	—	—	—	—	—	250			

— = nicht kontrolliert. Alle Werte sind abgerundet.

im Herzmuskel (15. 17, 18, 125, 104), Ausnahme (116). In zwei Fällen (104, 102) wurde nach 14 Tagen auch eine erhebliche Frequenzverlangsamung festgestellt.

Die übrigen ausgemessenen Werte der Überleitungszeit, Kammerkomplex und Systolendauer zeigten nichts Besonderes. Vereinzelt war eine relative Verkürzung der Überleitungszeit vorhanden. In einzelnen Fällen war eine Verlängerung der Systolendauer bei Frequenzzunahme zu beobachten. Da es sich hier jedoch um Ausnahmen und keine Regelmäßigkeiten handelte, möchten wir diese Beobachtungen nicht verallgemeinern und daraus irgendwelche Schlußfolgerungen ziehen.

2. Formveränderungen.

Formveränderungen einzelner EKG-Abschnitte treten mit einiger Regelmäßigkeit im Laufe einer Thyroxinvergiftung auf. Sie zeigen sich ebenso wie die verschiedenen schon beschriebenen anderen Wirkungssymptome erst nach einer gewissen Latenzzeit.

Die erste auffällige Formveränderung war ein Größerwerden von P, und zwar in über 50 % aller Versuche. P wurde dabei meist hoch und spitz und war dann oft die höchste Zacke im EKG. Eine weitere charakteristische Veränderung war das Kleinerwerden von R und das Größerwerden von S, oder wenn ein S nicht vorhanden war, kann es im Laufe der Vergiftung auftreten (Abb. 1). Bevorzugt waren hierbei Ableitung 2 und 3. Wir verzichten auf Grund der eingangs schon erwähnten Mängel im Tierversuch auf die Angabe von Lagetypen. Wollte man diese trotzdem berücksichtigen, so würden Rechts- und Linkstyp gleich oft vorkommen, aber in vielen Fällen läßt sich überhaupt kein Typ bestimmen. Die Formveränderungen

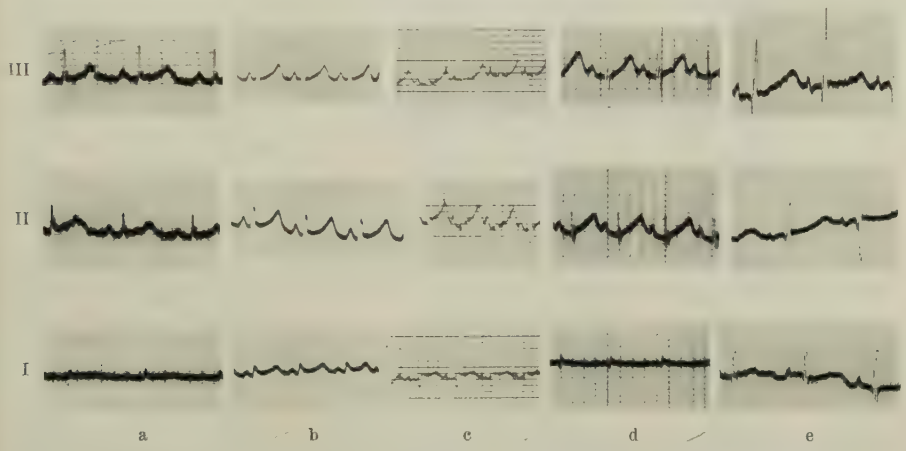


Abb. 1. Erhielt 35 mal 0,25 mg/kg Thyroxin (Abstand 1 Tag). a: Ausgangs-EKG. b: nach 6 Dosen, hohe T. c: nach 8 Dosen, T_3 flacher, Erscheinen von S. d: nach 14 Dosen, R_1 und R_2 kleiner, immer noch hohe T_1 und T_2, S_1—S_3. e: 8 Tage nach 35 Dosen; R wieder hoch, T kleiner.

der Endschwankung traten oft im Anschluß an hohe spitze T auf, wobei diese aber zeitlich unabhängig von den Veränderungen von P sich zeigten, aber zu den frühzeitigen Formveränderungen im Laufe der Vergiftung zu rechnen sind. Die weiteren Veränderungen von T, gewöhnlich mit Fortschreiten der Vergiftung, waren Senkungen von ST und Negativwerden von T, wobei diese Veränderungen meist in Ableitung 3 beginnen (wie beim Mensch). Wir haben noch besonders auf den Abgang der Endschwankung geachtet. Hierbei wurde sehr oft ein Abgang weit oberhalb der isoelektrischen von der hochaufsteigenden S-Zacke gefunden, dagegen war bei den seltenen Abgängen von der R-Zacke höchstens ein etwas erhöhter Ansatz und der Übergang zur T-Zacke war dann eine starke nach unten (oft unter die isoelektrische) geschwungene Linie, die ohne besondere Absetzung in T überging. Auf besondere Ausprägung und Rundung von S, sowie den schlechten Anstieg von T weisen Parade und Förster hin (beim Menschen). Bei mehreren Fällen wurden Vorhofs-

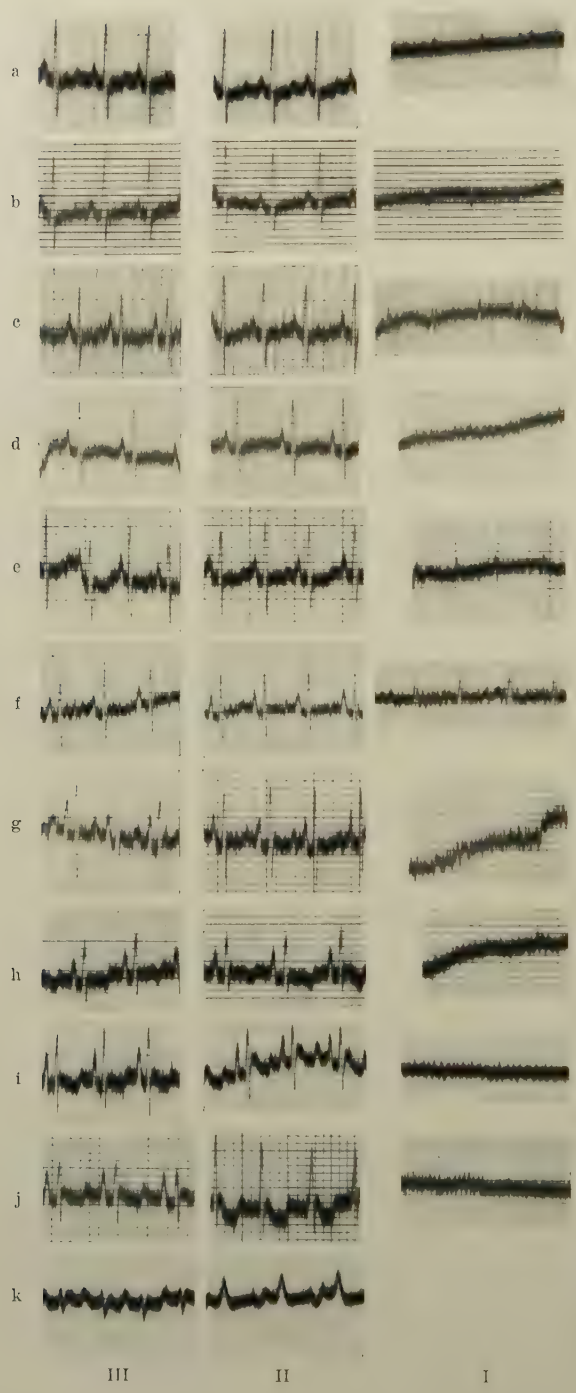


Abb. 2. Erhielt 8 mal 1,5 mg/kg Thyroxin (Abstand 1 Tag). a: Ausgangs-EKG. b: 24 Stunden nach der ersten Dose. T wird flacher. c: 24 Stunden nach der 2. Dose, hohe P. d: 24 Stunden nach der 4. Dose, T weiter flach. e: 24 Stunden nach der 6. Dose, wie d. f: 24 Stunden nach der 7. Dose, wie d und e, also unverändert. g: 1 Tag nach der 8. Dose, hohe P. h: 2 Tage nach der 8. Dose (letzte Injektion), hohe P, R kleiner, T_1 und T_2 neg. i: 3 Tage nach letzter Dose, S überwiegt, hoher Abgang von der aufsteigenden S-Zacke, T_1 und T_2 neg. j: 4 Tage nach letzter Injektion. T_1 und T_2 neg. verstärkt. k: 1 Stunde vor Tod, Vorhofsfropfung. QRS breit, beginnende Arrhythmie.

pfropfungen beobachtet (Abb. 2). Der zeitliche Beginn zeigte unabhängig von der Dosierung erhebliche Schwankungen (zwischen 2. -10. Tag). Lediglich für die Veränderungen der Endschwankung zeigte sich eine Häufung um den 4.—7. Tag.

Es wäre nun die Frage zu stellen: Treten diese EKG-Veränderungen im Laufe einer Vergiftung in einer bestimmten Reihenfolge auf und wie lange kann man dieselben beobachten? Die Reihenfolge, in welcher wir diese Formveränderungen sehr häufig fanden, ist mit wenig Ausnahme die, wie wir sie oben aufgezählt haben. Die geschilderten Veränderungen können allein oder nur zwei usw. auftreten. Jede der nicht normalen Stromkurven wurde immer einige Tage lang gefunden, so daß 24-Stunden-Kontrollen vollauf zu ihrer Erfassung genügen. Im einzelnen wurden die Veränderungen der Endschwankung nach einmaligen Dosen (bei Erholung) nur einige Tage lang (2—6) gefunden und gingen dann wieder zurück. Im Falle einer progredienten Vergiftung konnte manchmal eine Verstärkung beobachtet werden, in dem Sinne, daß eine Formveränderung erst in einer Ableitung auftrat, dann in mehreren, die sich dann noch verstärken konnten (Abb. 3). Auffallend war, daß öfters trotz fortlaufender Giftzufuhr, selbst bei länger dauernden Versuchen, die EKG-Ver-

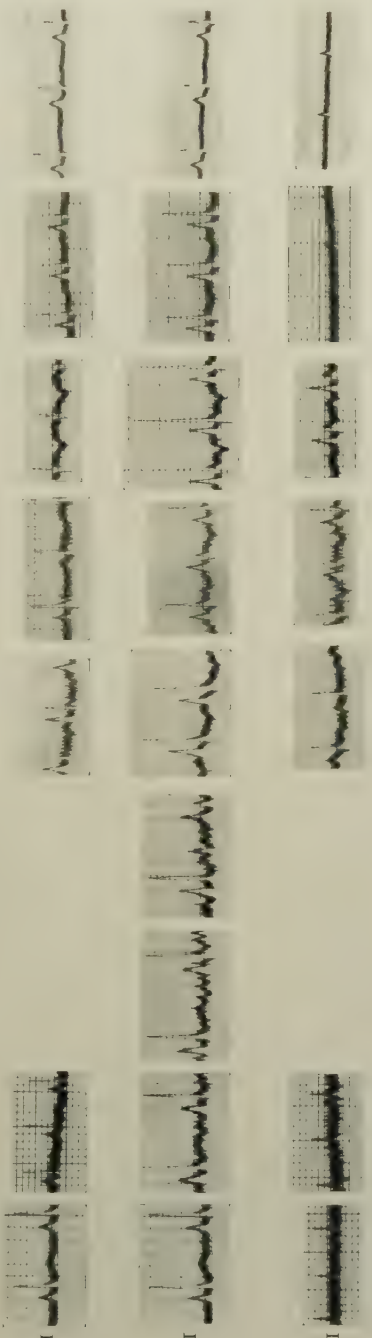


Abb. 3. Einmalige sehr hohe Dose von 11,2 mg/kg Thyroxin (Infusion). a: Ausgangs-EKG. b: nach 5,1 mg/kg Thyroxin in 50 Minuten, P höher, T etwas flacher. c: am Ende der Infusion 11,2 mg/kg wie b. d: nach 6 Stunden P noch höher. e: nach 12 Stunden, hohe P, Senkung ST_1 und T_3, T_2 neg. f: nach 28 Stunden, T_2 und T_3 neg., ST_1 gesenkt. g: nach 54 Stunden, T_1-T_3 neg. verstärkt. h: nach 5 Tagen, keine neg. T mehr, Senkung ST_2, noch hohe P. i: nach 3 Wochen, alle T schwach positiv, P kleiner, normales EKG.

änderungen nach ihrem Erscheinen sich nur wenig verstärkten oder weiter veränderten.

3. Morphologische Veränderungen*.

Frühestens 8 Tage nach einer Injektion (einmalige Dosen 3 bis 4 mg Thy./kg, wiederholte 2–3 mg/kg insgesamt) können im Herzmuskel morphologische Veränderungen im Sinne einer Nekrosenbildung gefunden werden. Besonders auffallende Veränderungen zeigte das EKG dabei nicht. Im Gegenteil, man ist oft erstaunt über Versuche mit wenig klinischen Symptomen und geringen EKG-Veränderungen, bei denen nachher im Herzmuskel morphologische Veränderungen gefunden wurden (107, 122). Es fällt überhaupt schwer, bei dem unterschiedlichen Ausdruck der Giftwirkung im EKG Beziehungen zu den morphologischen Befunden herzustellen. Allgemein betrachtet läßt sich feststellen, daß bei wiederholten Dosen die Neigung zu Myocardveränderungen größer ist als nach einmaligen Dosen. Die Höhe der Dosis spielt hierbei nur eine untergeordnete Rolle, denn große und kleinste wiederholte Dosen können zu morphologischen Veränderungen führen, wobei die Unterschiede der gegebenen Gesamtdosen sehr große sein können. Aus unseren Versuchen haben wir den Eindruck gewonnen, daß die morphologischen Veränderungen keine Beziehungen zu bestimmten Ausdrucksformen des EKG zeigen, wie wir es bei unseren Digitalisuntersuchungen feststellen konnten. Das einzige, was wir mit einiger Bestimmtheit aussagen können ist, daß bei der Mehrzahl der Tiere, bei welchen morphologische Veränderungen im Herzmuskel gefunden wur-

Tabelle 4. Beziehungen der morphologischen Veränderungen zur Gewichtsabnahme und Tachycardie.

Nr.	Gewichtsabnahme in % bei der letzten EKG-Kontrolle	Nekrosen	Versuchsdauer Tage	Tachycardie Dauer, Tage
108	+ 17	—	15	k
101	— 12	—	3,5	2–3
102	— 35	—	15	2–3
107	— 15	+	18	k
104	— 4	+	15	6
103	— 7	—	15	3
105	— 30	++	11	etwa 1
78	— 33	+	14	k*
111	— 35	?	21	?
81	— 25	—	11	
113	— 22	—	7	?
15	— 28	+	49	über 5
17	— 36	++	49	7
18	— 34	+++	28	k*
122	— 40	—	26	2–3
125	— 43	+	20	k
116	— 20	+?	8	?
83	— 21	—	5	
82	— 20	+	11	
117	— 3	?	4	
19	— 13	—	3	
20	— 17	+	9	

+ = Plus
— = Minus

+ = Nekrosen
— = keine Nekrosen
k = keine
* am Todestage Tachycardie

* Eine genaue Beschreibung erfolgt in einer nachfolgenden Arbeit von R. Hilbing.

den, mindestens 4 Tage lang eine Tachycardie beobachtet wurde und auch Veränderungen der Endschwankung mindestens ebensolange bestanden, hierbei zeigten die beiden Erscheinungen sich nicht immer zur gleichen Zeit, manchmal trat die eine oder andere nur für sich allein auf (Tabelle 4).

Schlußbetrachtung.

Überblicken wir am Ende der Untersuchungen nochmals die Ergebnisse, so sind es drei Punkte, die uns wesentlich erscheinen. 1. Der eigenartige Vergiftungsverlauf. 2. Die elektrokardiographischen Veränderungen. 3. Die Frage, ob wir aus diesen Untersuchungen Nutzen ziehen können.

Zur Kennzeichnung des Vergiftungsverlaufs nach Thyroxin haben wir denselben sowohl bei einmaligen wie wiederholten Dosen ausführlich geschildert. Wir glauben damit gezeigt zu haben, daß auch der Reihenversuch einer individuellen Betrachtung bedarf, um daraus Schlußfolgerungen ziehen zu können. Dies ist gerade bei einer so vielseitigen Vergiftung, wie es die mit einer Schilddrüsensubstanz darstellt, ganz besonders notwendig, und das bestätigte auch der unterschiedliche Vergiftungsverlauf in allen Versuchsreihen. So mußten wir feststellen, daß sowohl der Beginn wie auch das Ende, d. h. völlige Erholung oder Tod nach einer Vergiftung, große Schwankungen zeigen, und daß hierbei die Dosierung besonders bei wiederholten Dosen ein recht unbestimmbarer Umstand bezüglich ihrer Wirkung darstellt. Jede Vergiftung ist wie bei klinischen hyperthyreotischen Zuständen prognostisch schwer zu beurteilen. Die EKG-Veränderungen sind vielseitig, lassen allerdings gewisse Regelmäßigkeiten erkennen. Sie treten meist erst in fortgeschrittenen Vergiftungsstadien auf, die wir im Tierversuch entsprechend unseren Dosierungen als eine unverhältnismäßig schwere Schädigung des Organismus betrachten müssen. Wohl finden wir auch hier die von der Klinik her bekannten Veränderungen von P und T in über 50% aller Fälle. Das zeitliche Auftreten ist aber unberechenbar und insbesondere machen sich im EKG abgesehen von der schon frühzeitig auftretenden Frequenzbeschleunigung keine sicheren Anzeichen bemerkbar, daß eine schwere oder leichte Vergiftung vorliegt. Auch der Verlauf der Herzstörung im EKG läßt sich ebensowenig wie die Zeit ihres Auftretens vorausbestimmen. Die EKG-Störungen tauchen plötzlich auf, können in dem Anfangsstadium verharren, sich vertiefen oder auch wieder zurückgehen, ohne daß irgendwie eine Handhabe vorhanden ist, um diesen Ausgang vorauszusehen oder vorauszubestimmen. Wichtig ist weiterhin, daß die EKG-Störungen einzeln und kombiniert auftreten können, wobei wie sonst jede Gesetzmäßigkeit fehlt. Auch hier umgibt uns das Unbekannte dieser Störungen wie in der Klinik, wo wir nie in der Lage sind, prognostisch sicher aussagen zu können und wo sich plötzliche Besserungen und ebenso Verschlechterungen einzustellen vermögen.

Für die Praxis ergibt sich aus diesen Untersuchungen die erneute Bestätigung der allgemeinen Ansicht, daß bei der Behandlung mit Schilddrüsenstoffen bei jeder Art von Erkrankung mit größter Vorsicht zu verfahren ist. Dasselbe gilt für Jodpräparate. Auch nach Absetzen der Substanz muß mit dem Auftreten einer späteren Wirkung, die in ihrer Dauer nicht vorauszusagen ist, gerechnet werden. Weder das EKG noch der Grundumsatz können thyreotoxische Herzstörungen sicher anzeigen. Sind aber charakteristische Veränderungen am Herzen nachweisbar, dann ist es unmöglich, eine sichere Prognose zu stellen.

Wir geben nachstehend eine Zusammenstellung der häufigsten EKG-Veränderungen, wobei die Zeit infolge ihrer Schwankungen nicht einzubeziehen war.

Hohe und spitze *P* bei	52 %
Hohe und spitze *T* bei	17 %
Negative *T* bei	47 %
R wird kleiner bei	40 %
R wird größer bei	17 %
Vorhofspfropfung	17 %

Ein auffallender Befund bei diesen Vergiftungen sind die bei der Minderzahl der Tiere im Laufe einer länger dauernden Vergiftung auftretenden morphologischen Veränderung im Herzmuskel. Sie besitzen Ähnlichkeit mit den Befunden, wie wir sie bei Vergiftungen mit Digitalisglykosiden hervorrufen können. Die Zahl der gefundenen Nekrosen steht aber im allgemeinen hinter denen durch Digitalis verursachten zurück. Weiter ist beachtenswert, daß sich keinerlei sichere Beziehungen dieser morphologischen Veränderungen zu den EKG-Störungen feststellen lassen. Wir konnten zwar beobachten, daß gewisse Erscheinungen, wie Frequenzbeschleunigung und Formveränderungen der Endschwankung, sich regelmäßig bei allen Versuchen mit morphologischen Veränderungen, mit einer Ausnahme, über längere Zeit zeigen. Aber es wurden auch bei Versuchen mit elektrokardiographisch immer negativen Befunden morphologische Veränderungen im Herzmuskel gefunden. Der elektrokardiographische Befund sagt uns nicht viel bzw. die gefundenen Veränderungen sind nach allgemeiner Auffassung keine Zeichen von schweren Herzschädigungen und doch muß der Herzzustand ein sehr schlechter sein, wie die Empfindlichkeitsprüfung mit Digitalis ergab, denn von solchen vorbehandelten Herzen mit fast normalem EKG reagieren manche nach kleinen Digitalisdosen schon mit einer sehr starken Glykosidwirkung.

Vergiftungen mit Schilddrüsenstoffen führen im Laufe der Zeit zu einer für Herz und Kreislauf höchst ungünstigen Überbelastung. Neben der dann rein hämodynamisch bedingten Leistungsschwäche des Herzens besteht auch noch eine stoffwechselenergetische. Bei erhöhtem Sauerstoffbedürfnis des gesamten Organismus ist die Sauerstoffausnutzung denkbar schlecht, ganz besonders gilt dies aber von der erhöht beanspruchten

Herzmuskelzelle. Was kann nun die Ursache der morphologischen Veränderungen im Herzmuskel sein? Dieser Mangel an Sauerstoff im Stoffwechsel der Herzmuskelzelle kann vielleicht schon primär ehe eine Leistungsschwäche in Erscheinung tritt die Ursache hierfür sein. Wie nun im einzelnen diese Erscheinungen vielleicht vor sich gehen mögen, dafür gibt Rihl eine Theorie. Nach ihm entstehen die Nekrosen durch den Glykogenschwund in der Herzmuskelzelle, dies führt zu einem Eiweißabbau, dadurch wird das Eiweiß des Zellgerüsts angegriffen und die Folge davon ist eine Gewebsnekrose. Hier bei der Thyroxinvergiftung, die ja erst nach 8 Tagen zu nachweisbaren Veränderungen im Herzmuskel führt, kann man solche Vorgänge annehmen, aber da wir in Versuchen mit kurzer Sauerstoffmangelatmung oder Abbinden der Kranzarterien oder Digitalis sehr viel rascher zu ähnlichen Veränderungen kommen können, scheint uns der Sauerstoffmangel doch eine überragende Rolle bei der Entstehung der morphologischen Veränderungen zu spielen. Daß unter diesen Umständen schon geringe Digitalismengen mit ihrer direkten Muskelwirkung zu starker Glykosidwirkung führen können, ist einleuchtend. Ob die Wirkung des Thyroxins auf das Herz eine direkte oder indirekte ist, kann durch das EKG nicht entschieden werden. Gegen eine direkte Wirkung spricht die Latenzzeit, deshalb liegt die Annahme einer indirekten Wirkung näher, da sich eine stärkere Herzwirkung erst verhältnismäßig spät zeigt. Ein Hinweis aber ist für uns wichtig. Die Ausdrucksform des EKG (hier in Ruhe) gibt uns nur in geringer Weise oder oft gar nicht einen schweren Herzzustand wieder und ist hier einmal Mahnung gegen eine Unterbewertung des sonst oft überbewerteten EKG.

Zusammenfassung.

1. Vergiftungen mit einmaligen oder wiederholten Dosen von Thyroxin zeigen starke individuelle Schwankungen. Bei einmaliger Gabe werden verhältnismäßig große Mengen gut vertragen, während wiederholte Gaben schon nach wenigen kleinen Teildosen sehr starke Wirkung zeigen können.

2. Charakteristisch für jeden Vergiftungsverlauf ist eine Latenzzeit und zu gewissen Zeiten ein stärkerer Gewichtssturz. Der Wirkungsanstieg ist bei höheren Teildosen verhältnismäßig gleichmäßig, während bei kleineren Teildosen die Schwankungen größer sind. Der Gesamtvergiftungsverlauf schwankt aber bei ersteren stärker als bei letzteren.

3. Bei allen Versuchsreihen findet man gewisse immer wieder auftretende EKG-Veränderungen. Diese können gemeinsam aber auch jede für sich vorkommen. Der Zeitpunkt des Auftretens ist sehr verschieden und zeigt keine Beziehungen zu eventuell vorhandenen klinischen Erscheinungen. Gehäuft vorkommende EKG-Veränderungen sind hohe und spitze *P*- und *T*-Zacken, negative *T*, Kleinerwerden von *R*, Auftreten von *S*, Vorhofspfropfungen.

4. Aus den EKG-Veränderungen lassen sich keine Schlüsse ziehen bezüglich Schwere und Prognose einer Vergiftung.

5. Die morphologischen Veränderungen im Herzmuskel sind unabhängig von dem Grad der Vergiftung, denn sie werden sowohl bei schweren wie leichten Vergiftungen beobachtet. Sie zeigen keine Beziehungen zu bestimmten EKG-Veränderungen.

6. Die Herzwirkung des Thyroxins ist wahrscheinlich eine indirekte, bedingt durch die allgemeine schwere Vergiftung, die diese Substanz verursachen kann.

Die histologische Untersuchung der Herzen wurde durch meinen Mitarbeiter R. Hilbing im Pathologischen Institut der Universität (Prof. Büchner) durchgeführt. Herrn Prof. Büchner möchte ich an dieser Stelle für die Durchsicht der Präparate bestens danken.

Schrifttum.

Bauer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **172**, 699 (1933); Bauer u. Reindell: Ebenda **190**, 461 (1938); **191**, 322 (1939). — Bansi: Med. Klin. **1927**, I, 356. — Bickel u. Frommel: Schweiz. med. Wsch. Nr. 11 (1926). — Cortex, Schleingart, Bakow: Rev. franc. Endocrin. Nr. 9 (1931). - Coelho u. Rocheta: C. r. Soc. Biol. **101**, 975 (1929). — Diekhoff: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **182**, 293 (1936). — Ferranini: Arch. internat. Pharmacodynam. **54**, 299 (1936). — Franke: Arch. klin. Med. **159**, 180 (1928). - Gossels: Ebenda **173**, 597 (1932). — Hellin: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **40**, 121 (1898). — Heinlein u. Diekhoff: Virchows Arch. **297**, 253 (1936). — Hoffmann: Kongr. inn. Med. **1909**, 26. — Kämmerer u. Obermaier: Arch. klin. Med. **174**, 117 (1932). — Mc Guire u. Foulger: Amer. Heart J. **8**, 114, 151 (1932). — Merken u. Eisner: Dtsch. Z. Chir. **210**, 239 (1928). — Miki: Z. exper. Med. **27**, 323 (1922). — Misske u. Schön: Z. Klin. Med. **125**, 387 (1933). — Moor de Paul: C. r. Soc. Biol. **123**, 533 (1936); **124**, 579 (1937). — Nicolini: Arch. internat. Pharmacol. **31** (1925). — Parade: Verh. dtsch. Ges. Kreisl.forsch. **1937**; Parade u. Haas: Münch. med. Wschr. **1931**, Nr. 6; Parade u. Förster: Z. Klin. Med. **129**, 198 (1935). — Rhil: Endokrinol. **18**, 88 (1936); Med. Klin. **1937**, 154, 1936. — Strübell: Zbl. Herzkrkh. (Ö.) **4** (1932). — Sylla: Med. Klin. **1924**, I, 832.

Betrachtungen zur Herzwirksamkeit der Digitalisglykoside.

Von

Hellmut Bauer

(Chirurgische Universitätsklinik Freiburg i. Br.)

Mit 5 Textabbildungen.

(Eingegangen am 21. Juli 1939.)

Die besondere Affinität der Digitalisglykoside zur Herzmuskelzelle gilt als Hauptursache der Herzwirksamkeit dieser Substanzen. Diese Herzspezifität wird durch die primäre Glykosidanreicherung im Herzen bis zur optimalen Sättigung noch unterstrichen. Man darf annehmen, daß diese in zahlreichen Untersuchungen erhobenen Befunde für alle Warmblüter Gültigkeit haben. Es ist deshalb erstaunlich, daß wir trotzdem im Experiment noch gewaltige Wirkungsunterschiede finden, z. B. zwischen Nagetieren und Katzen. Während erstere eine ungewöhnliche Resistenz zeigen, sind letztere besonders empfindlich. Neuere Untersuchungen über die Verteilung der Glykoside im Gesamtorganismus haben nun aber ergeben, daß von einer einverleibten Glykosidmenge nur 10—16 % im Herzen gebunden werden, während sich die Restmengen auf Muskel, Bauchorgane, Haut, Blut, Skelet usw. verteilen (Weese, Rothlin). Die Anreicherung im Herzen ist demnach nicht so stark, daß man sie als die alleinige Ursache der besonderen Herzwirksamkeit betrachten könnte, wenn auch die relativen Glykosidmengen, die im Herzen fixiert werden, noch als groß betrachtet werden müssen. Wie können wir uns diese Wirkungsunterschiede deuten? Aus anderen Verteilungsbedingungen (beim Warmblüter) lassen sie sich nicht erklären, da meines Wissens solche Versuche für andere Tiere wie Katzen bisher nicht vorliegen. Es erscheint auch unwahrscheinlich, da die Herzaffinität ja bei allen besteht. Wir müssen deshalb andere Umstände annehmen, die hier ganz allgemein durch die verschiedene Tierart bedingt sind und damit allerdings schlechter übersehbar.

Es gibt jedoch auch bei gleichen Individuen oft recht große Wirkungsunterschiede. Wir müssen also neben der besonderen Eigenart der Herzmuskelzelle bei verschiedenen Tierarten auch noch deren Zustand im Augenblick des Digitalisangebots mit berücksichtigen. Sehr eindrucksvoll werden uns diese Unterschiede immer wieder in der Klinik vor Augen geführt. Kranke Herzen reagieren auf die üblichen therapeutischen Dosen stärker, unter Umständen anders wie normale. Wenn wir eben von kranken Herzen gesprochen haben, so ist dies etwas sehr allgemein gefaßt, denn unter diesen kranken Herzen kennen wir solche mit bestimmten Zustandsformen, die erfahrungsgemäß besonders gut beeinflußt werden, während

andere wieder nur sehr wenig oder gar nicht. Wir denken hier an den Unterschied der guten Digitaliswirkung bei Mitralinsuffizienzen und ihrem Gegenstück der glykosidresistenten Aorteninsuffizienz. Nach Edens sind Dekompensation und Hypertrophie maßgebende Umstände für eine erhöhte Wirksamkeit. Nach Weese bedingen dilatierte und gestaute Herzen eine bessere Ausnutzung der angebotenen Glykosidmenge, da hier die Oberfläche des Endocards und des Herzgefäßsystems im Verhältnis zur Muskelmasse vergrößert ist und die Adsorptionszeit infolge der langsameren Durchströmungsgeschwindigkeit verlängert ist. Warum es aber neben der therapeutischen Wirksamkeit durch relativ kleine Glykosidmengen auch zu besonders starken Wirkungen kommen kann, wird hierdurch nicht erklärt.

Scharf zu trennen haben wir gewisse toxische Wirkungen bei der Digitalisbehandlung von der therapeutischen Wirksamkeit. Diese toxischen Wirkungen sind die sogenannten Kumulierungserscheinungen. Als Ursache dieser Erscheinungen wurde lange Zeit eine Substanzaddierung der Digitalis im Herzen angenommen. Gegen diese Annahme konnten jedoch schon auf Grund theoretischer Überlegungen Bedenken erhoben werden. So haben wir früher schon darauf hingewiesen, daß auf Grund von chemischen und biochemischen Erwägungen eine längere Anwesenheit des primär im Herzmuskel haftenden Glykosids nicht möglich ist. Die Labilität der Digitalisglykoside, insbesondere von Infusen, ist eine allgemein bekannte Tatsache und da schon selbst in kaltem Muskelbrei suspendierte Glykoside nach den Untersuchungen Fischers rasch zerfallen, so ist dies an der biochemisch aktiven Herzoberfläche erst recht anzunehmen. Aber auch die Erfahrung der Klinik bei Herzkranken läßt weitere Bedenken zu. Nicht nur der geringe Prozentsatz der bei der Digitalisbehandlung durch länger fortgesetzte tägliche Gaben, zu Herzstörungen neigenden Kranken, sondern auch die unterschiedlichen Gesamtmengen, bei welchen wir diese Erscheinungen beobachten. So erleben wir es immer wieder, daß bei manchen Herzkranken sich schon nach geringen Mengen von Digitalis innerhalb von wenigen Tagen Störungen zeigen, bei anderen treten sie erst nach einigen Wochen nach entsprechend größeren Glykosidmengen auf. Ein Teil von Kranken, und das sind nicht wenige, vertragen sogar monatelang dieselben Teildosen, haben also im Vergleich zu den ersten riesige Gesamtmengen erhalten. Solche Beobachtungen sind durch eine spezifische Verteilung der Glykoside und Anreicherung im Herzmuskel vorläufig nicht erklärbar und stehen zu den Anschauungen eines langen Haftens der Glykoside im Herzmuskel in Widerspruch. Vielfach wird die lange Verträglichkeit damit begründet, daß die ersten Dosen zur Kompensation geführt haben und wir nun gewissermaßen ein normal reagierendes Herz vor uns haben, das weniger empfindlich ist und das deshalb keine Digitalisstörungen mehr auftreten. Dem steht entgegen, daß manche Herzinsuffizienzen im Stadium fortgeschrittener Erkrankung der dauernden

Digitaliszufuhr bedürfen, da sich sonst rasch wieder stärkere Dekompensationserscheinungen einstellen.

Nachfolgend wird über zwei Fälle berichtet, die den Unterschied der Digitaliswirkung am Menschen zeigen.

1. 56jähriger Mann mit stärkeren Insuffizienzerscheinungen erhielt im Anschluß an die Klinikbehandlung noch fortlaufend Digitalis (Digalen*). Zuerst wurde 14 Tage lang täglich 1 ccm intravenös gegeben, dann 14 Tage lang jeden 2. Tag 2 ccm. Störungen wurden nicht beobachtet. Daß die Injektionen wirksam waren, zeigte sich außer an dem Wohlbefinden des Patienten, bei dem sehr leicht Kompensationsstörungen eintraten, an folgender Erscheinung, die auch noch vereinzelt bei anderen Kranken gesehen wurde: Nach 4—5 Gaben von 1 ccm wurde die Frequenz langsamer und gleichzeitig traten Extrasystolen auf, also Anzeichen von Kumulierungserscheinungen bzw. Digitalisstörungen. Im Laufe der weiteren Behandlung verschwanden die Extrasystolen wieder nach 3—4 Tagen, trotz weiterer Digalenzufuhr. Wenn das die Folge einer echten Glykosidspeicherung gewesen wäre, so hätten sich diese Störungen steigern müssen. Nach den höheren Dosen (2 ccm) wurde dieselbe Erscheinung schon nach der 2.—3. Dose beobachtet. Sie ging auch wieder zurück trotz Fortdauer der Behandlung. Interessant waren die Angaben dieses und vieler anderer Kranken, daß 5—10 Minuten nach einer Injektion eine erhebliche Erleichterung verspürt wird, die nach 6—8 Stunden wieder nachläßt.

2. Dieser Fall zeigt die sogenannten Kumulierungserscheinungen besonders deutlich. 58jährige Frau mit Zeichen schwerster Dekompensation, reagierte schon auf kleine einmalige Mengen von Strophanthin (0,00125 bis 0,0025 g) und Digitalis (2×1 Zäpfchen Digipurat), mit leichter Übelkeit und vermehrten Extrasystolen. Die üblichen therapeutischen Dosen durften nicht gegeben werden, denn sonst traten erhebliche Frequenzverlangsamungen und Arrhythmien auf. Bei dieser Kranken bestand also eine ausgesprochene Überempfindlichkeit gegenüber den Glykosiden. Hierin scheint uns, wenn auch besonders stark ausgeprägt, der Kern des Kumulierungsproblems zu liegen. Besondere Zustandsbedingungen der Herzmuskelzelle und daneben sehr wahrscheinlich noch Abweichungen vom Normalen die den Gesamtorganismus oder auch eventuell noch andere Organe (Leber, Schilddrüse?) betreffen, sind die Ursache einer Überempfindlichkeit bzw. begünstigen die Neigung zu Digitalisstörungen. Diese ersten Zustandsbedingungen, die man auch als Ausgangsbedingungen bezeichnen könnte, und die besonders bei kranken Herzen, für die stärkere Wirksamkeit gegenüber normalen Herzen eine wesentliche Rolle spielen, werden durch die Digitalisgabe in einem Sinne verändert, der die An-

* 1 ccm war angegeben mit 75 Froschdosen. Eine andere bekannte Digitalissubstanz, die mit 150 Froschdosen deklariert war, erwies sich im Tierversuch an der Katze nur als halb so wirksam (alles frische Präparate). Eine Warnung, wie wenig Wert diese Standartwerte im Hinblick auf Warmblüter haben.

sprechbarkeit erhöht oder erniedrigt. Daß bei der üblichen dreimaligen Verabreichung innerhalb 24 Stunden eine gewisse Substanzaddierung stattfindet, soll nicht abgelehnt werden, aber wir glauben, daß das ureigenste dieser Erscheinungen, die besondere Empfindlichkeit des Herzens gegen Digitalis damit nicht erklärt werden kann. Ein beachtlicher Umstand beim Auftreten der Digitalisstörungen ist auch das plötzliche Erscheinen derselben, ohne daß sich vorher irgend welche sichere warnende Symptome zeigen.

Welche frühzeitigen Kriterien der Überempfindlichkeit können wir nun durch unsere klinischen Hilfsmittel erwarten? Manche Kranke machen uns auf Grund von Unwohlsein aufmerksam auf eine eventuell kommende Störung nach Digitalis. Der feinste uns zur Verfügung stehende Gradmesser für die Herzwirkung ist aber das Elektrokardiogramm. Da wäre zunächst die Frage zu stellen, was können wir vom EKG als ein Warnungssignal erwarten? Diese Frage ist grundsätzlich dahin zu beantworten: jede durch eine Digitalisgabe hervorgerufene Veränderung ist beachtenswert und kann ein prognostischer Hinweis sein. Hier treten aber schon die Schwierigkeiten auf, die unter Umständen sehr groß sind. Ein pathologisches EKG kann durch Digitalis zur normalen Seite hin verändert werden und umgekehrt ein normales zur pathologischen Seite. Wo haben wir trotzdem die Möglichkeit, zu erkennen, was prognostisch günstig ist und was eventuell bedenklich. Ein Gradmesser hierfür ist die Anfangswirkung des Digitalis unter Berücksichtigung der gegebenen Dose im EKG, wobei der Zeitpunkt des Eintritts der Wirkung wichtig ist.

Unsere nachfolgenden Erörterungen gelten zunächst nur für normale Herzen und lassen besondere Empfindlichkeiten, wie wir sie bei manchen kranken Herzen finden, außer acht. Weiter gelten unsere Befunde in erster Linie für unsere tierexperimentellen Untersuchungen, die wir seit mehreren Jahren an Katzen durchgeführt haben. Einwände einer besonderen Überempfindlichkeit der Katze gegen Digitalisglykoside sind nicht berechtigt, wie wir schon früher festgestellt haben. Die Zahl der überempfindlichen Tiere war bei allen unseren Versuchsreihen, gleichgültig, ob es sich um Versuche mit letalen Infusionen oder wiederholten kleinen Dosen handelte, in der überwiegenden Minderzahl.

Eines der stärksten wirksamen Digitalisglykoside, das damit am leichtesten Störungen verursacht, ist das Digitoxin. Auf Grund dieser Eigenschaft ist es besonders geeignet, um die Wirkung sogenannter Kumulierungserscheinungen im EKG zu untersuchen. Die Stärke und Dauer der Wirkung einer bestimmten Dose hängen von der individuellen Empfindlichkeit des Organismus ab, dem diese Dose verabreicht worden ist. Die Zeichen der Wirkungsstärke sind in einer früheren Mitteilung* schon eingehend erörtert worden. Worauf es uns hier ankommt (immer im Hin-

* Bauer u. Reindell: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 461 (1930).

blick auf die Frage eines Kriteriums für Überempfindlichkeit) ist zu zeigen, wie sehr einmal die Höhe der Dose und zum anderen der Zeitpunkt, in welchem EKG-Veränderungen beobachtet werden, zu beachten sind.

Nach einer subletalen bzw. toxischen Glykosidmenge findet man schon wenige Minuten nach der Injektion im EKG erhebliche Veränderungen, die im Laufe von Stunden und Tagen zunehmen können und sich dann bei Erholung langsam wieder vollkommen zurückbilden. Auf nähere Einzelheiten dieser Wirkungen möchten wir hier nicht eingehen, da wir sie ebenfalls schon ausführlich beschrieben und erörtert haben. Wichtig erscheint uns hier aber zu erwähnen, daß nach solchen höheren Dosierungen Veränderungen im EKG 1—3 Wochen lang, vereinzelt noch länger zu beobachten sind. Das EKG kann uns nach diesen Dosierungen in vielen Fällen warnen, damit eine zweite Dose nicht zu früh gegeben wird.

Dem entsprechen auch unsere Erfahrungen, die wir nach höheren Dosen machten, wenn wir innerhalb der Zeit, in welcher im EKG nachweisbare Veränderungen vorhanden waren, kleine zusätzliche Dosen gaben. Diese führten sofort zu einer starken Veränderung im EKG, die ausdrucksmäßig dann auch einer verstärkten Digitaliswirkung entsprach. Man könnte jedoch, wenn man mit der Eigenart der Vergiftung (primäre und sekundäre Wirkung) nicht vertraut ist, manche Überraschung erleben. Zur Veranschaulichung des eben Gesagten möge die nachfolgenden EKG dienen. Aus Raumgründen geben wir nur Ableitung II wieder. Es handelt sich um Versuche mit einmaligen subletalen Dosen Digitoxin, intravenös gegeben.

Eine Kontrolle nach 4 Stunden zeigt gegenüber dem Ausgangs EKG negativ T in Ableitung II und III, Frequenzverlangsamung und etwas verlängerte Überleitungszeit. Nach 16 Stunden ist T_2 zurückgegangen. Das EKG, als solches betrachtet, würde auch mit Berücksichtigung der ersten beiden EKG keine sonderliche Warnung darstellen. Nach 24 Stunden zeigt sich wieder ein negatives T in II und III, R ist leicht geknotet. Nach 46 Stunden ist die Endschwankung wieder ausgeglichen, die Frequenz verlangsamt. Nach 70 Stunden ist T isoelektrisch und das EKG weicht nicht sehr vom Ausgangs-EKG ab. 5 Stunden später, also 75 Stunden oder 3 Tage nach der Injektion, sehen wir einen Bigiminus (ohne Narkose geschrieben). Nach 98 Stunden herrscht vollständiger heterotoper Rhythmus vor, der 24 Stunden später, nach 122 Stunden insgesamt, von einem dem sogenannten Coronar-Typ ähnlichen EKG abgelöst wird.

Als Gegenstück geben wir eine Stromkurve von einem anderen Versuch, der unter den gleichen Bedingungen angestellt worden ist. Hier sehen wir nach 4 Stunden schon eine sehr starke Wirkung (Schenkelblockartig). Nach 16 Stunden ist die Entscheidung schwer (totaler Block mit AV-Rhythmus?). Wie dem auch sei, jedenfalls sehen wir noch eine ganz erhebliche Digitoxinwirkung. Nach 24 Stunden möchten wir einen

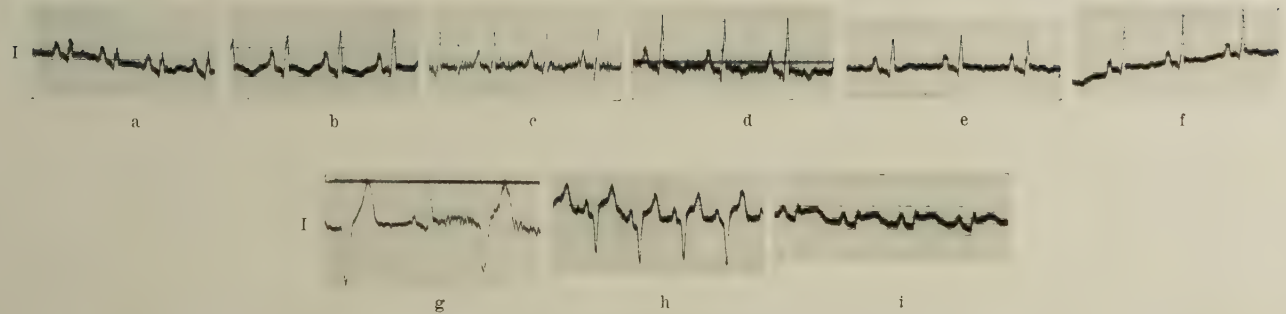


Abb. 1a. 0,17 mg/kg Digitoxin i. v. a) Ausgangs-EKG; b) nach 4 Std. neg. *T* Frequenzverlangsamung, verlängerte Überleitungszeit; c) nach 16 Std. *T* zurückgegangen; d) nach 24 Std. neg. *T*; e) nach 46 Std. Endschwankung ausgeglichen, Frequenzverlangsamung; f) nach 70 Std. *T* isoelektrisch; g) nach 75 Std. Bigeminus; h) nach 98 Std. heterotoper Rhythmus; i) nach 122 Std. Coronar *T* ähnlich. 0,17 mg/kg Digitoxin i. v.

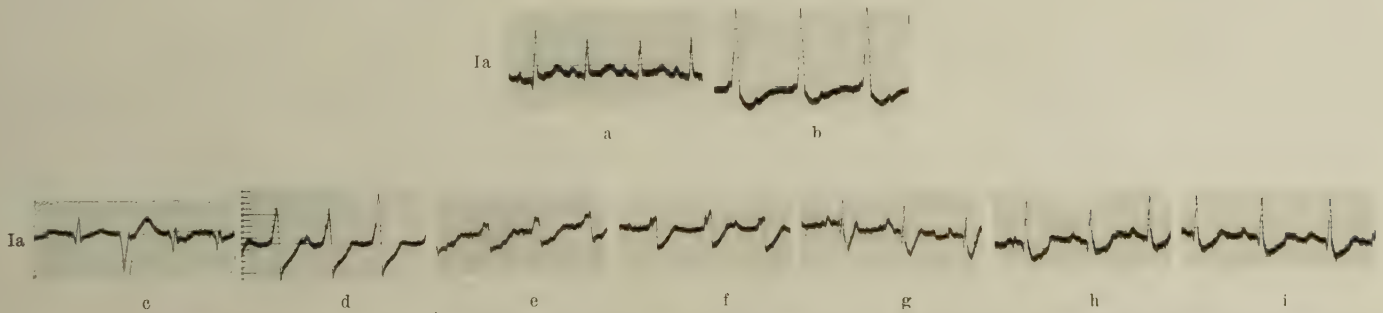


Abb. 1b. a) Ausgangs-EKG; b) nach 4 Std. schenkelblockartig; c) nach 16 Std. totaler Block, AV-Rhythmus? d) nach 24 Std. heterotoper Rhythmus? e) nach 40 Std. wie d; f) nach 45 Std. wie d; g) nach 51 Std. Normalrhythmus neg. *T*; h) nach 69 Std. Rückgang von *T*; i) nach 75 Std. wie g.

vollständigen heterotopen Rhythmus annehmen. Bestärkt werden wir in dieser Annahme durch die hohe Frequenz. Nach 40 und 45 Stunden kaum eine Änderung, nach 51 Stunden wieder Normalrhythmus mit stark negativem T in Ableitung I—III. Nach 69 und 75 Stunden geringer Rückgang der negativen T. Es bedarf hier keiner langen Erläuterungen, um den Unterschied der beiden Vergiftungen hervorzuheben. Der Vergiftungsverlauf nach hohen Dosen zeigt auch im EKG sehr unterschiedliche Bilder. Der Schwerpunkt unserer Betrachtung liegt aber darin, zu zeigen, daß man bei sehr schweren Vergiftungen zeitweise fast normale EKG beobachten kann (von uns als Latenzstadium bezeichnet), d. h.

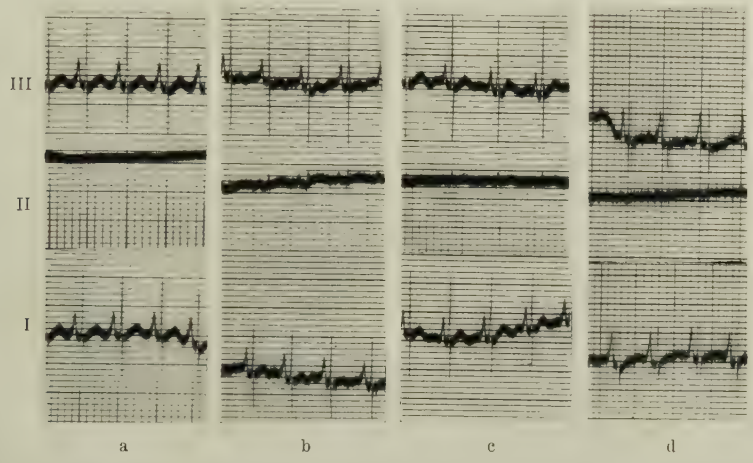


Abb. 2. 0,1 mg/kg Digitoxin subc. a) Ausgangs-EKG T_1 flach, T_2 T_3 stark positiv; b) nach 2 Std. T_3 stark negativ, T_2 angedeutet neg., T_1 unverändert; c) nach 6 Std. T_2 und T_3 wieder pos., Ausgangs-EKG; d) nach 23 Std. angedeutet neg. T_3, T_2 abgeflacht.

nach höheren Dosen öfters und über längere Zeit kontrollieren muß, will man vor Überraschungen durch die Wirkung einer zweiten selbst kleinen Dose sicher sein.

Die Wirkung kleiner Glykosidmengen ist gleichmäßiger, und dem entsprechend sind die EKG-Veränderungen geringer und oft kaum erkennbar. Wir waren lange Zeit dieser Meinung, bis sich ergab, daß es nur auf den Zeitpunkt der EKG-Kontrolle nach der Injektion ankommt. Das nächste EKG stammt von einem Versuch mit kleiner Dose Digitoxin (intravenös). Die Kurven ergeben, daß sich das Bild innerhalb 24 Stunden wesentlich ändern kann, und wir bei einer nur 24stündigen Kontrolle unter Umständen ein völlig falsches Bild der Wirkung bekommen. Denn bei einer Kontrolle nach 23 Stunden zeigt uns z. B. hier das EKG schon eine Sekundärwirkung an, deren Entstehungsmechanismus wir bis jetzt noch nicht überschauen und damit nicht sicher beurteilen können. Nun haben unsere früheren Untersuchungen aber ergeben, daß wir bei

kleinen Dosen nach 24 Stunden oft keine Veränderungen mehr im EKG (also ein normales EKG) finden, die zweite Dose trotzdem aber stark wirkt. Hier müssen wir nun die Wirksamkeit der ersten Dose und deren Dauer in unsere Betrachtung mit einbeziehen. Selbst die Wirkung nach einer kleinen Digitalisgabe tritt schon sehr kurze Zeit nach der Injektion auf, bei höheren Dosen kann man sogar schon während der Injektion die ersten Veränderungen im EKG beobachten. Diese erste Wirkung, die gewissermaßen die Digitalisansprechbarkeit des betreffenden Herzens zeigt, kann verschieden lang (je nach dem Grad der Empfindlichkeit) dauern. Bei unseren kleinen Dosen beobachteten wir sie 2, allerhöchstens 12 Stunden lang. Dies dürfte auch der Wirkungsdauer einer therapeutischen Dose entsprechen. Bliebe das Glykosid länger wirksam, so wäre das Abklingen der Wirkung im EKG nicht zu erklären (höchstens mit einer zu geringen Empfindlichkeit der Apparatur). Nach diesen Ergebnissen wäre also eine mehrmalige Kontrolle innerhalb der ersten 12 Stunden und natürlich auch nach 24 Stunden zu verlangen. Man könnte nun einwenden, daß die Latenzzeit bei der Digitaliswirkung hier nach 24 Stunden einen Faktor großer Unsicherheit darstelle, der eine Beurteilung nach dieser Zeit erschwert, wenn nicht unmöglich macht. Hiergegen ist zu sagen: 1. Daß wir nach kleineren Dosen, die ungefähr den therapeutischen entsprachen, wohl eine gleichmäßige Wirkung, aber niemals toxische Wirkungen beobachtet haben. 2. Ist es, wenn sich nach der zweiten Dose (in der Höhe einer einmaligen gegebenen schon wirksamen Glykosidmenge) eine stärkere Wirkung zeigt noch nicht gefährlich, und die eventuell weiteren Dosen können noch rechtzeitig abgesetzt werden. 3. Die Beobachtungen der früheren Untersuchungen haben gezeigt, daß Sekundärwirkungen und damit der veränderte Zustand des Herzens, der für eine zweite Digitalisdose eine erhöhte Empfindlichkeit bedingt, abhängig sind von der Stärke und Dauer der Primärwirkung. Diese aber können wir aus dem EKG sicher entnehmen. Das nachfolgende EKG dient zur Erläuterung.

Wir haben hier bei 6 wiederholten Dosen (Abstand 1 Tag) von Digipurat (0,25 ccm/kg intravenös) immer sofort nach der Injektion, ferner nach 3, 5, 10, 15 Minuten und 24 Stunden ein EKG geschrieben. Zu beachten ist nun, wie mit steigender Teildosenzahl die Stärke der Wirkung innerhalb der ersten Viertelstunde nach jeder neuen Injektion deutlich zunimmt, und früher beginnt. Bei der Kontrolle nach 24 Stunden zeigen sich dann gegenüber dem Ausgangs-EKG meist nur geringe oder gar keine Unterschiede. Wir haben hier also in der Beobachtung der ersten Viertelstunde nach der Injektion eine Möglichkeit, aus der Stärke der Wirkung (und auch entsprechend längerer Dauer) Hinweise für eine eventuelle stärkere Wirkung der nächsten Dose zu erhalten.

Die Erklärung der Stromkurven ist aus der Tabelle leicht zu entnehmen. Die Spalten entsprechen der Zeit, nach welcher das EKG geschrieben wurde. Es zeigte sich von oben nach unten, daß je mehr Dosen

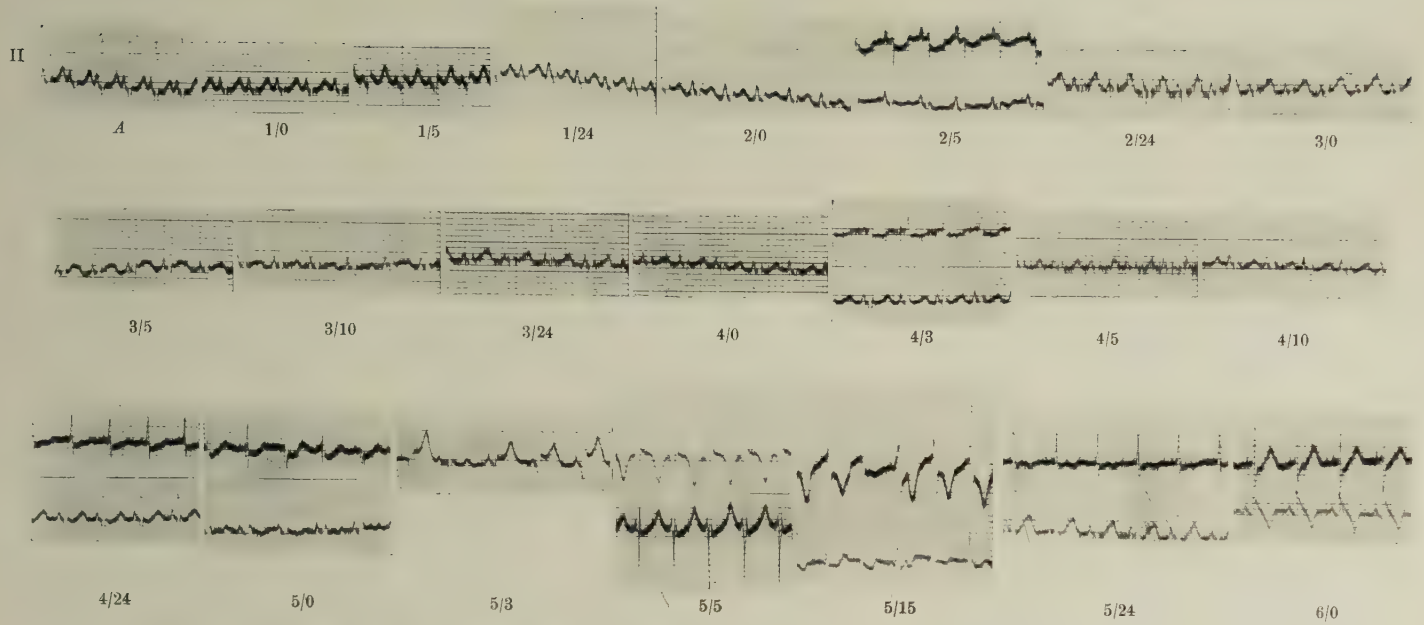


Abb. 3. Siehe Tabelle. Zeichenerklärung: A = Ausgangs-EKG, erste Zahl Dose, Zahl hinter dem Strich = Minuten nach der Injektion, z. B. $^{3}/_{10}$ = Kontrolle 10 Min. nach Injektion der 3. Dose.

Tabelle zu EKG Nr. 3.

EKG-Veränderungen nach Minuten.

Nach	Sofort nach Injektion (0)	3	5	10	15	24 Std.
1. Dose	u	u	langsamer	A	—	A
2. Dose	langsamer	u	T_3 neg. T_1 flach noch langsamer	wie 0	wie 10	A, etwas langsamer
3. Dose	langsamer	wie 0	Abgang höher T flacher	Ausschläge klein, T noch flacher	wie 10	A, langsamer
4. Dose	schneller T flacher	langsamer T_3 neg. T_1 flacher	T spitzer	T flacher	wie 10	langsamer, T_3 flach
5. Dose	T_3 neg. T_2 neg. langsamer	heterot. und Normalrhythmus	nur heterot. Rhythmus		wie 5	T_3 neg. Abl. II = A
6. Dose	heterot. Rhythmus	wie 0	wie 0	wie 0	wie 0	

u = unverändert, A = Ausgangs-EKG.

gegeben waren, desto schneller eine Wirkung eintrat und desto länger dauerte. Wir haben hier also in der Wirkung der ersten Viertelstunde, die bei manchen Tieren auch noch länger oder kürzer dauern kann, gewissermaßen ein Test der Ansprechbarkeit auf die nächste, in unserem Falle gleich hohe Dose. Von Dose zu Dose wird das Herz empfindlicher und spricht immer leichter an. Es besteht hier also eine zunehmende Empfindlichkeit des Herzens, deren nähere Ursache vorerst noch offenbleibt. Sie mit einer Substanzspeicherung erklären können wir nicht, da die Wirkung ja innerhalb einer Viertelstunde abklingt, erscheint dies doch gänzlich unwahrscheinlich.

Bei höheren Dosen, bei welchen man noch nach 24 Stunden Wirkungen findet, konnten wir an Hand des EKG eine deutliche Wirkungsaddierung zeigen. Hier aber sind es EKG-Befunde nach 24 Stunden, die uns praktisch keine Veränderungen zeigen; z. B. nach der vierten Dose (bei der 24 Stunden-Kontrolle) nicht einmal andeuten, daß schon mehrere Glykosiddosen gegeben worden sind. Durch diese Ergebnisse ist die Problematik der Digitaliskumulierung keinenfalls einfacher geworden, führt aber aus dem Bereich theoretischer Erwägungen wieder näher an die Praxis heran, denn die primäre Ansprechbarkeit auf Digitalis finden wir auch beim Menschen nach den üblichen therapeutischen Dosen. Es wird darüber in anderem Zusammenhang noch berichtet werden.

Wir erwähnten eingangs schon, daß neben den soeben so sinnfällig gewordenen besonderen Zustandsbedingungen des Herzens sehr wahrscheinlich auch noch andere Zustandsbedingungen innerhalb des Organismus maßgebend die Wirksamkeit der Digitalisglykoside mit beeinflussen.

Als solche gegebenen anderen Zustandsbedingungen, deren nähere Ursache wir noch nicht kennen, können wir die Resistenz der Nagetiere betrachten. Es ist ja bekannt, welch große Glykosidmengen z. B. Ratten und Kaninchen (Hunde) vertragen können.

Wir haben einer Serie von Kaninchen wiederholte intravenöse Dosen von Digitoxin in eintägigem Abstand gegeben, und die Tiere fortlaufend mit dem EKG kontrolliert.

Versuchsanordnung: Geschrieben wurde ohne Narkose in Rückenlage in Ableitung I, II, III mit Silbernadelelektroden, die am Abgang der oberen Extremitäten und der linken unteren unter die Haut eingestochen wurden. Die Einstichstellen wurden markiert und dort bei der nächsten Kontrolle wieder eingestochen. Elektrokardiograph war ein Universalverstärkerapparat von Hellige.

Entsprechend der starken Resistenz fanden wir, trotz zum Teil sehr hohen Teildosen (die z. B. zur Tötung von vier Katzen genügten) nur wenig Veränderungen im EKG. Wir können deshalb unsere genauen Ausmessungen durch allgemeine Angaben ersetzen.

Kaninchenversuche.

Alle Tiere erhielten wiederholte Dosen von Digitoxin intravenös (Abstand 1 Tag). Die Wirkung wurde sofort nach der Injektion und innerhalb der ersten Viertelstunde in einigen Fällen auch stundenweise, sowie alle 24 Stunden durch das EKG geprüft.

Kaninchen Nr. 1 erhielt neunmal 0,2 mg/kg Digitoxin. Am 1. und 2. Tage war innerhalb der ersten Viertelstunde nach der Injektion eine geringe Frequenzverlangsamung zu beobachten, sonst aber nichts, auch nicht im Laufe der folgenden Tage und Dosen. Nach 3 Wochen war das EKG weiter unverändert. Nun wurden 0,8 mg/kg Digitoxin gegeben, 24 Stunden nach der ersten Dose keine Wirkung, 45 Minuten nach der zweiten Dose war das Tier tot.

Kaninchen Nr. 2 erhielt siebenmal 0,6 mg/kg Digitoxin. Nach der vierten Dose war im EKG eine geringe Zunahme der Frequenz von 12—16 % gegenüber der Ausgangsfrequenz zu beobachten. 3 Wochen nach der letzten Dose war die Frequenz gegenüber der Ausgangsfrequenz immer noch um 16 % erhöht. Da wir ohne Narkose arbeiteten, mögen hier nervöse Einflüsse mit dabei die Ursache gewesen sein. Die direkt im Anschluß an die Injektion gewonnenen Befunde sind dagegen einwandfrei als Wirkungen zu bewerten. Nun erhielt das Tier viermal 0,8 mg/kg Digitoxin, es erfolgte eine weitere zunehmende Frequenzsteigerung von Dose zu Dose. 2 Stunden nach der vierten Dose starb das Tier. Sonstige EKG-Veränderungen waren nicht festzustellen.

Kaninchen Nr. 3 erhielt neunmal 0,6 mg/kg Digitoxin. Nach der zweiten Dose zeigte sich eine geringe Frequenzverlangsamung, die auch nach der dritten Dose noch anhielt, sie war jedesmal innerhalb der ersten Viertelstunde nach der Injektion etwas stärker und ging dann zurück. Nach der vierten Dose war die Frequenz wieder schneller und wurde dann bis zur neunten Teilgabe langsamer. Nach der neunten Dose ging der Abgang von *T* unter die isoelektrische. Das Tier wurde 6 Tage später nochmals kontrolliert, es zeigte das Ausgangs-EKG.

Kaninchen Nr. 4 erhielt siebenmal 0,6 mg/kg Digitoxin intravenös. Die Kontrollen nach den ersten drei Dosen ergaben keinerlei Veränderungen. Nach der

vierten Dose wurde stündlich kontrolliert, hierbei wurde nach 2 Stunden eine erhebliche Frequenzverlangsamung festgestellt. Nach 5 Stunden war das Ausgangs-EKG wieder erreicht, ebenso auch nach 24 Stunden. Die drei nächsten Dosen ergaben außer einer vorübergehenden Abflachung von T_2 keine Veränderungen. Der Versuch wurde dann abgebrochen.

Die Teildose von 0,8 mg kg Digitoxin intravenös gegeben, erwies sich bei allen Kaninchen nach 4 Dosen immer als tödlich. Dabei wurden im EKG keinerlei auffallende Veränderungen festgestellt, d. h. also vor der letzten Teildose wurden im EKG keine Zeichen gefunden, die im Sinne einer länger dauernden Wirkung hätten verwendet werden können.

Unsere Überlegung bei diesen Versuchen mit Kaninchen ging davon aus, daß die Resistenz gegen Digitalis durch allgemeine Besonderheiten der Art bedingt ist. Wir stellten für die höchsten Dosen von 0,8 mg kg Digitoxin bei täglicher Gabe zwar Kumulierungserscheinungen fest. Im EKG finden wir jedoch nur unbedeutende Veränderungen. Auch klinisch, das muß ganz besonders betont werden, waren sämtliche Versuchstiere immer munter, verweigerten nie die Nahrung und zeigten keine Gewichtsabnahme, noch äußerlich irgendwelche Wirkungssymptome. Es wurden in keinem Falle Erscheinungen, wie man sie bei Katzen nach Digitalis sehen kann beobachtet. Daß wir im EKG nichts Besonderes beobachtet haben, konnte ja vielleicht an der zu geringen Empfindlichkeit der Apparatur gelegen haben. Es handelt sich zwar um einen modernen Verstärkerapparat, deshalb müßte eigentlich der letzte Gedanke aus den Erwägungen ausscheiden. Jedenfalls lagen etwaige Veränderungen unterhalb den mit unserem verhältnismäßig hoch empfindlichen Apparat nachweisbaren. Nun haben wir aber bei einigen Tieren einige Stunden nach der Injektion noch eine verhältnismäßig starke Wirkung beobachten können, die im Verlaufe von 5—6 Stunden wieder restlos verschwunden war. Wie erwähnt, ist hier der Zeitpunkt der Beobachtung nach der Injektion sehr zu beachten. Gerade nach kleinen Dosen können Formveränderungen innerhalb von Stunden, ja oft Minuten, vorhanden sein, zurückgehen und erneut in Erscheinung treten. Wir haben die ersten Veränderungen als primäre oder direkte Digitaliswirkung aufgefaßt und die rückfälligen Veränderungen (nach bestimmter Zeit) als sekundäre Wirkungen. Bei der bis jetzt noch nicht widerlegten Ansicht der direkten Wirkung auf die Herzmuskelzelle kann man sich vorstellen, daß die Dauer der Wirkung, die ja das eine Mal das Herz nur einige Stunden (Kaninchen), das andere Mal aber 1—2 Tage (Katze) lang unter veränderten Zustandsbedingungen arbeiten läßt, eine besondere Rolle spielen muß. Daß diejenige Herzmuskelzelle, die länger der Digitaliseinwirkung ausgesetzt war, auch länger zur Erholung braucht, ist einleuchtend. Und weiter muß man annehmen, daß der Elektrokardiograph (besonders für die Wirkung bei Kaninchen) vielleicht doch nicht empfindlich genug ist, ein normal schlagendes Herz von einem noch in der Erholungsphase nach Digitalis schlagenden zu unterscheiden.

Bei den resistenten Tieren können wir entsprechend der hohen Reizschwelle vielleicht einen langsameren Wirkungsanstieg annehmen und entsprechend dem geringeren Wirkungsgrad erfolgt die Erholung auch schneller. Dazu mag noch die Eigenschaft der schnelleren Entgiftung kommen.

Es kann angenommen werden, daß auch hier bei den artbedingten resistenten Fällen durch eine genaue Beobachtung und vor allem Feststellung des Zeitpunkts des Auftretens von stärkeren Veränderungen der Herzstromkurve und unter Beachtung der Ansprechbarkeit und Zeitdauer, wie wir es bei den Katzen gezeigt haben, Hinweise für eine bevorstehende toxische Wirkung der eventuell nächsten Dose erwarten können. Voraussetzung ist allerdings eine recht häufige Kontrolle. Diese Kontrolle erstreckt sich nach unseren Erfahrungen und Vorstellungen, die wir von der Glykosidwirkung (Primärwirkung) haben, auf die ersten 6—12 Stunden für empfindliche Organismen. Bei weniger empfindlichen oder artbedingt resistenten müßte sie wesentlich kürzer sein (1—6 Stunden?).

Veränderungen der Herzstromkurve, die noch länger wie 12 Stunden beobachtet werden, sind gewöhnlich noch nach 24 Stunden vorhanden, und damit schon ein Zeichen stärkerer Wirkung.

Wir möchten noch kurz über einige Versuche an Katzen berichten, bei denen unseres Erachtens weniger der Herzzustand wie die toxischen Veränderungen des allgemeinen Stoffwechsels bei der Digitaliswirkung zu berücksichtigen sind, also noch andere veränderte Zustandsbedingungen innerhalb des Organismus bestehen. Es handelt sich um Versuche mit Thyroxinvorbehandlung. Obwohl diese Versuche angestellt worden waren, um die Empfindlichkeit myocardgeschädigter Herzen gegen Digitalis zu prüfen, zeigte es sich im Laufe dieser Untersuchungen, daß der Herzzustand, soweit er sich aus dem EKG und den morphologischen Untersuchungen beurteilen ließ, nicht im Vordergrund der Giftwirkung stand, sondern die durch Schilddrüsenstoffe allgemein bekannten schweren Veränderungen im Gesamtorganismus*.

Da wir unsere Betrachtung besonders unter dem Gesichtspunkt Empfindlichkeit und prognostische Bedeutung des EKG bei Digitalisgaben anstellen, interessiert hier nur das EKG und der Allgemeinzustand bei Prüfung der Digitalisempfindlichkeit.

Die chronische Verabreichung von Schilddrüsensubstanzen in entsprechend hohen Dosen führt zu einer schweren Allgemeinvergiftung. Es tritt ein Komplex von Störungen auf, die sich gegenseitig überschneiden, so daß die Beobachtung bzw. Analyse bestimmter Einzelwirkungen sehr erschwert und oft gar unmöglich wird. Im Vordergrund einer Thyroxinvergiftung steht der erheblich verschlechterte Allgemeinzustand mit starker Gewichtsabnahme. Die elektrokardiographischen Veränderungen.

* Der experimentelle Teil dieser Untersuchungen wird von meinem Mitarbeiter R. Hilbing in einer folgenden Arbeit veröffentlicht.

die wir hierbei, selbst bei schwersten Vergiftungen, finden können, sind verhältnismäßig gering. Nach einer Latenzzeit beobachtet man Tachykardien, die aber wieder zurückgehen (auch bei weiterer Thyroxinzufuhr).

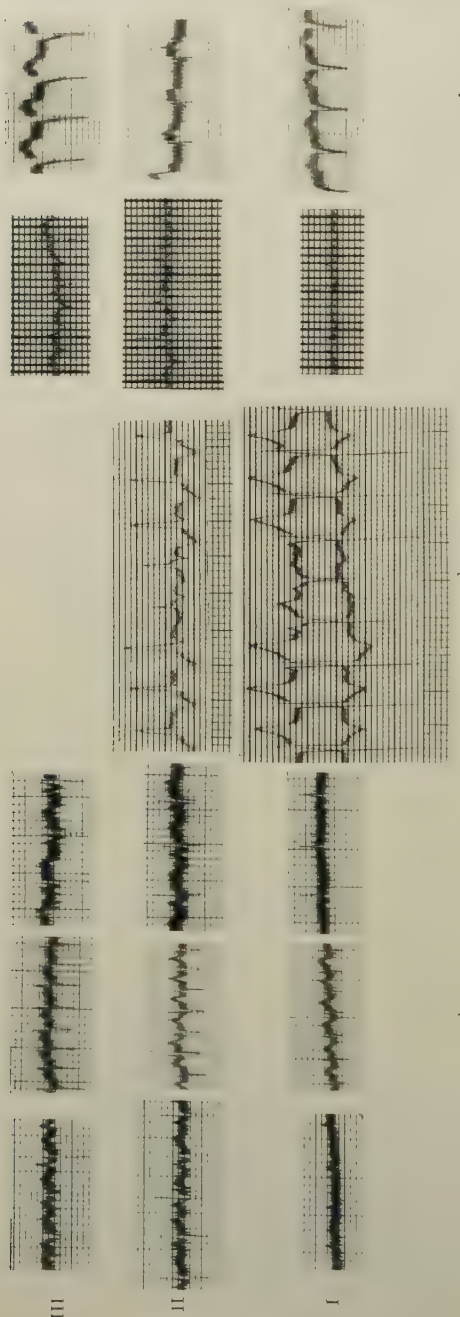


Abb. 4. Erhielt 7 mal 1,0 mg/kg Thyroxin in eintägigem Abstand. a) Ausgangs-EKG; b) nach 8 Tagen, 1 Tag nach Ende der Thyroxininjektionen, Vorhofspfropfung; c) 14 Tage nach letzter Injektion, wie Ausgangs-EKG; d) 1 Std. nach 0,05 mg/kg Digitoxin subc. schenkelblockartiges EKG mit vereinzelten Normalschlägen; e) 24 Std. nach 0,05 mg/kg Digitoxin, Normalrhythmus neg. $T_1 - T_3$; f) 20 Std. nach der 2. Dose 0,05 mg/kg Digitoxin subc. Heterotoper Rhythmus (teilweise Bigeminus — ohne Narkose), in den Normalschlägen neg. T.

Hohe und spitze T werden öfters gefunden, vereinzelt auch Vorhofspfropfungen. Wir wissen aus der Klinik, daß das EKG in manchen Fällen kein zuverlässiger Gradmesser für den Herzzustand ist und wir gerade bei Thyreotoxikosen oft relativ wenig Veränderungen finden. Immerhin schien es doch wesentlich, die Digitalisempfindlichkeit zu prüfen, unter der besonderen Beachtung des hier im Vordergrund stehenden thyreotoxischen bzw. schlechten Allgemeinzustands, und das EKG soweit es eben Veränderungen zeigte und deren prognostische Bedeutung für die Digitalisempfindlichkeit zu untersuchen.

Nachfolgend geben wir Ausschnitte aus den Stromkurven von zwei Versuchen. Nr. 4 war ein Versuch mit großen wiederholten Dosen von Thyroxin. 1 Tag nach Absetzen der Injektionen zeigte sich im EKG (EKG 4b) eine Vorhofspfropfung. 14 Tage später (4c) war eine dem Ausgangs-EKG gleichende Stromkurve fest-

zustellen. Klinisch war das Tier nach 8 Tagen noch sehr munter, hatte bis dahin 11,5% an Gewicht abgenommen, Freßlust war sehr gut. 14 Tage später, also 3 Wochen nach der letzten Thyroxininjektion, zwar normales EKG, aber sehr schlechter Allgemeinzustand, 35% Gewichtsabnahme, Haarausfall, apathisch. Die EKG-Kontrollen konnten ohne Narkose durchgeführt werden. Das Tier erhielt nun 0,05 mg/kg Digitoxin subcutan. Dies ist eine Dose, die von normalen Tieren immer ohne stärkere Wirkung vertragen wird. Besonders eine stärkere Wirkung über 12 Stunden hinaus wurde nie beobachtet. Und hier? 1 Stunde nach dieser Injektion sehen wir schon (4d) stärkste Wirkung im EKG (schenkelblockartig), ebenso noch nach 24 Stunden. Es zeigen sich charakteristische Kumulierungserscheinungen. 20 Stunden nach der 2. Dose von 0,05 mg/kg Digitoxin (Abstand 1 Tag) erschien im EKG ein völliger heterotoper Rhythmus, also stärkste Digitaliswirkung. Nach täglichen Dosen von 0,05 mg/kg Digitoxin wurde diese Wirkung an normalen Tieren frühestens nach der 3. Dose beobachtet. Wir haben hier also ohne Zweifel infolge der thyreotoxischen Vergiftung, ohne daß ein veränderter Herzzustand vor der Digitoxingabe im EKG

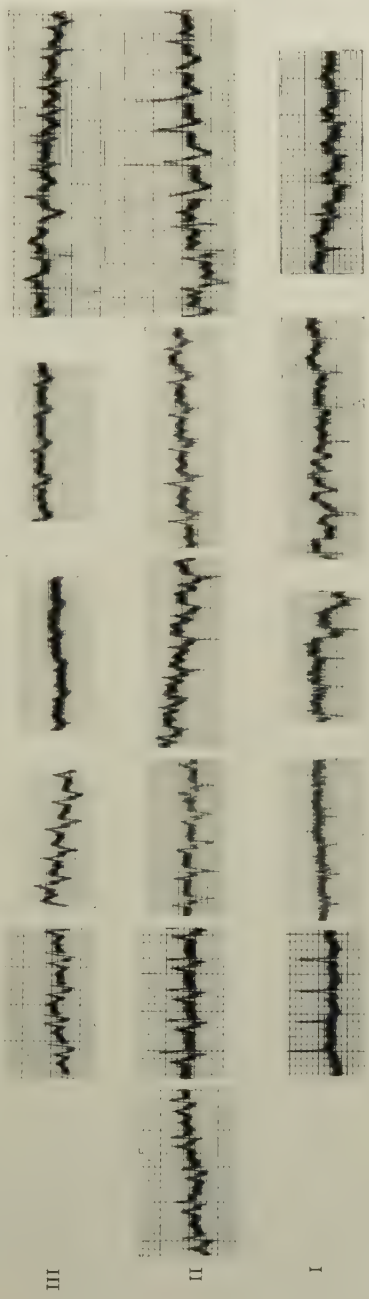


Abb. 5. Erhielt 12 mal 0,25 mg/kg Thyroxin i. v. in eintägigem Abstand. a) Ausgangs-EKG; b) nach 6 Teildosen Thyroxin $T_1 - T_2$ höher und spitzer, T_2 flacher, T_3 neg.; c) 4 Tage nach der letzten Thyroxindose T_3 flach, Abgang von der aufsteigenden S-Zacke, tiefes S_1 und S_2 kein R. QRS etwas verbreitert, T flach; d) 8 Tage nach der letzten Injektion hohe P, QRS schmäler T wieder deutlicher, immer noch hoher Abgang von der aufsteigenden S-Zacke; e) 16 Std. nach 0,05 mg/kg Digitoxin i. v. hohe P, $R_1 - R_3$ erscheint wieder, S_1 und S_2 kleiner, $P-Q$ verlängert, gehäufte Extrasystolen (Abl. III); f) überwiegender heterotoper Rhythmus, ganz vereinzelte Normalschläge (24 Std. nach der 2. Dose 0,05 mg/kg Digitoxin i. v.).

ersichtlich wäre, eine Empfindlichkeitssteigerung. Daß wir im EKG keine Veränderungen haben ist zwar noch kein Beweis, daß nicht doch ein veränderter Herzzustand vorliegt, aber das Empfindlichkeitskriterium, das wir hier suchten, ist zunächst der schlechte Allgemeinzustand, denn im EKG konnte nichts gefunden werden.

Der zweite Versuch, den wir hier wiedergeben, betrifft kleine wiederholte Dosen. Das betreffende Tier erhielt 12mal 0.025 mg/kg Thyroxin in eintägigem Abstand. 4 Tage nach der letzten Injektion sind geringe Veränderungen da (5c), ebenso nach 8 Tagen (5d). Hier haben wir zwar geringe, aber deutliche Veränderungen gegenüber dem Ausgangs-EKG. Klinisch war folgendes zu beobachten: Nach der 6. Dose trat eine gewisse Schlappheit ein, die bis zur 12. (letzten) Dose zu beobachten war. Das Tier erbrach öfters, im allgemeinen aber war der Zustand nicht als schlecht zu bezeichnen. Freßlust gut. Mit Absetzen der Injektionen trat eine auffallende Erholung ein. Die Freßlust steigerte sich. Als es gerade wieder seit 2 Tagen an Gewicht zunahm, gaben wir die erste Teildose Digitoxin. In diesem Zeitpunkt betrug der Gewichtsverlust 28% (stärkste Abnahme 38%), also noch eine starke Allgemeinwirkung anzeigend. Nach der 1. Dose Digitoxin von 0.05 mg/kg intravenös zeigte sich nach 16 Stunden eine starke Wirkung, wie sie sonst nach dieser Zeit und Dose unter normalen Bedingungen nie beobachtet wurde. Die zweite Dose gleiche Digitoxin führte hier zum Erscheinen eines beherrschenden heterotopen Rhythmus.

Wir haben noch mit letalen Strophanthin- und Digitoxininfusionen (nach Hatcher-Magnus) die Empfindlichkeit geprüft und fanden dabei Resistenzerhöhung und Verminderung. Der Allgemeinzustand war bei Resistenzverminderung im allgemeinen meist entsprechend schlecht. Die Werte der letalen Dosen waren aber, besonders wenn man Anfangs- und Endgewicht der Tiere berücksichtigte, nicht immer so überzeugend wie es gerade hier durch wiederholte kleine Dosen im EKG ganz eindeutig zum Ausdruck kommt, wieviel digitalisempfindlicher der Organismus durch die Thyroxinvorbehandlung geworden ist. Dies scheint dafür zu sprechen, daß der Organismus bei der Empfindlichkeitsprüfung mittels des raschen Angebots der letalen Infusion nicht seine wirkliche Abwehrbereitschaft und Anpassung zeigt. Bei der Prüfung mit wiederholten kleinen Digitalisdosen ist die Abwehrmöglichkeit zeitlich nicht so begrenzt und man kann annehmen, daß hierbei deshalb der Zustand besser wiedergegeben wird. Wiederholte kleine Dosen sind daher als Test den letalen Infusionen vorzuziehen.

Schlußbetrachtung.

Wir sind gewohnt unsere Betrachtungen der Wirkung Herz und kreislaufwirksamer Substanzen meist nur im Rahmen der direkt damit zusammenhängenden Organe und Funktionen anzustellen. Daß daneben

aber wahrscheinlich noch andere Faktoren innerhalb des Organismus die Wirksamkeit dieser Substanzen maßgebend mit beeinflussen, ist gerade im Hinblick auf die Verteilungsbedingungen bei Digitalis anzunehmen. Solange wir nichts sicheres über die Veränderungen am Hauptangriffsort, der Herzmuskelzelle, aussagen können, werden wir den Erklärungen unserer Experimente immer viel Theoretisches beifügen müssen. Wir haben versucht, die Herzwirksamkeit der Digitalisglykoside von drei verschiedenen Ausgangsbedingungen zu betrachten. 1. Das empfindliche Herz. 2. Das resistente Herz. 3. Unter den Bedingungen einer Allgemeinschädigung, wie sie durch eine Schilddrüsensubstanz verursacht wird. Soweit ein Vergleich mit der Klinik erlaubt ist, ergaben sich gewisse Parallelen in den Versuchen, die als Ursache der Digitalisstörungen eine Überempfindlichkeit zeigten und denen, die erst nach längerer Gabe hoher Dosen mit starken Wirkungen reagierten. Die genaue Auswertung der Anfangswirkung bzw. Primärwirkung hat wohl wertvolle Hinweise gegeben für die Empfindlichkeitssteigerung durch wiederholte Digitalisdosen und auch die Möglichkeit, durch entsprechende Kontrollen sich vor Überraschungen zu sichern, aber auch von dem immer noch rätselhaften der Kumulierungserscheinungen wieder etwas weggeführt. Sehr zu beachten ist hierbei der Umstand, daß wir von vielen sicher schwer geschädigten Herzen durch das Elektrokardiogramm, unserem feinsten Herzreagenz, darüber nichts erfahren. Die Untersuchungen haben uns einen kleinen Schritt weiter geholfen und gezeigt, daß, wenn wir die Anfangswirkung der Glykoside austesten, wir doch sehr wertvolle Hinweise über die Ansprechbarkeit und damit wohl auch den Zustand des Herzens bekommen können. Eine weitere Ergänzung zu diesen Fragen geben jene Thyroxinversuche, in welchen ohne vorherige Digitalisierung durch andere Zustandsbedingungen jene Voraussetzungen geschaffen wurden, die sehr leicht zu Kumulierungserscheinungen bzw. Digitalisstörungen führen. Die Seltenheit von Kumulierungserscheinungen und auch die Auffassung, daß es sich hier in den meisten Fällen um Überempfindlichkeiten handelt, rechtfertigt vielleicht in Zukunft besser, von Digitalisstörungen zu sprechen, und beim Auftreten solcher neben dem Herzbefund auch ganz besondere Aufmerksamkeit eventuell anderen Zustandsbedingungen des Organismus zu schenken.

Zusammenfassung.

1. Bei der sogenannten Digitaliskumulierung haben wir zu trennen toxische Erscheinungen von Störungen und therapeutischer Wirksamkeit. Erstere treten nach höheren Dosen auf, letztere nach den üblichen therapeutischen.

2. An Hand von Tierversuchen wird unter drei verschiedenen Zustandsbedingungen des Organismus die Herzwirksamkeit auf Digitalis und deren Erfassung betrachtet. Bei der digitalisempfindlichen Katze

wird gezeigt, daß selbst nach toxischen Dosen unter Umständen im EKG keine Wirkung nachweisbar ist, trotzdem aber erhöhte Empfindlichkeit besteht.

3. Die Empfindlichkeitssteigerung nach wiederholten kleinen Digitalisdosen kann am besten innerhalb der Primärwirkung erfaßt werden.

4. Art bedingte Resistenz besteht beim Kaninchen. Für höhere Dosen besteht auch hier Neigung zu Kumulierungserscheinungen. Nachweisbare Wirkungen sind nur kurz und wenig ausgeprägt zu beobachten.

5. Eine Allgemeinschädigung des Organismus durch Thyroxin führt zu einer Empfindlichkeitssteigerung gegenüber Digitalis, ohne daß man im EKG noch nachweisbare Veränderungen beobachten kann.

6. Neben den besonderen Zustandsbedingungen im Herzen bzw. der Herzmuskelzelle, die eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber den Digitalisglykosiden bedingen, sind auch besondere andere Faktoren innerhalb des Organismus oder vielleicht bestimmter Organe für eine Überempfindlichkeit verantwortlich.

Literatur.

Bauer: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **172**, 699 (1933); **176**, 65, 74 (1934). — Bauer u. Reindell: Ebenda **190**, 461 (1938); **191**, 311, 322 (1939). — Hilbing, R.: Dissertation Freiburg i. Br. 1939. — Rothlin: Helvet. med. Acta 1934, Nr. 4. — Weese: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **141**, 329 (1929). — Fischer, H.: Ebenda **130**, 111 (1928).

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Berlin und der Zoologischen Station in Neapel.

Über Kerngifte und Cytoplasmagifte*,**.

Von

N. Brock, H. Druckrey und **H. Herken.**

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 5. Oktober 1939.)

Der Großteil aller Untersuchungen über die Wirkung von Stoffen auf die belebte Substanz erstreckt sich auf die pharmakologische Beeinflussung der Funktion von Geweben, Organen und Organismen. Hier sind bereits ausgedehnte und spezielle Kenntnisse gewonnen, die vielfach Grundlage der modernen Arzneitherapie sind. Über die Wirkung von Pharmaka auf bestimmte Teile der Zelle und besonders den Zellkern wissen wir dagegen wenig. Das ist erklärlich, weil solche Wirkungen nicht so einfach erkennbar und darstellbar sind.

Das Bedürfnis, hier klarer zu sehen, hat sich aus naheliegenden Gründen zuerst auf dem Gebiete der Chemotherapie gezeigt. In der letzten Zeit ist es immer stärker hervorgetreten. Einmal, weil in zunehmendem Umfang Stoffe bekanntgeworden sind, die bei chronischer Einwirkung schwerste Schädigungen in den Organen und Geweben bis zur Entstehung von Krebsgeschwülsten hervorrufen, obwohl sie oft nicht die geringste Funktionsstörung bewirken. Zum zweiten, weil es wünschenswert erschien, Stoffe zu finden, die speziell auf den Zellkern und damit auf die Zellteilung „giftig" wirken. Drittens stellt der Genetiker dem Pharmakologen mit Recht die Frage, welche Stoffe geeignet erscheinen, Wirkungen auf den Zellkern als Träger der Erbmasse zu entfalten, etwa derart, daß sie für eine chemische Auslösung von Mutationen in Frage kommen. Viertens müssen wir annehmen, daß letzten Endes jede pharmakologische Wirkung an Bestandteilen der Zelle angreifen muß und daß der Zellkern hierbei von besonderer Bedeutung ist.

Die Wirkung von Pharmaka auf den Zellkern und vor allem auf den Ablauf der Teilungsvorgänge ist zuerst durch morphologische Studien am Beispiel des Colchicin von Dustin[1] nachgewiesen und genauer beschrieben worden. Seitdem sind eine ganze Reihe „karyoklastischer Gifte" gefunden[1,2] und die durch sie bewirkten Störungen der Zellteilungsvorgänge morpho-

* Durchgeführt mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

** Herrn Geheimrat Prof. Dr. M. Borst zum 70. Geburtstag.

[1] Dustin, A. P.: Arch. portug. Sci. biol. **5**, 38 (1936); Arch. exper. Zellforsch. **23** (1939). — [2] Chodkowski, K.: Protoplasma (D.) **28** (1937).

logisch genauer untersucht worden[1,3]. Wenn auch das Erfahrungsmaterial bisher noch klein ist, so sind doch zwei wichtige Phänomene bereits klar erkennbar. Das ist erstens die Tatsache, daß bestimmte Stoffe die Zellteilung nur in bestimmten Geweben stören und in einem ganz bestimmten Zeitpunkt der Teilung oder auf eine ganz bestimmte Art und Weise, je nach der Art des Stoffes. Einige stoppen sie z. B. schon im Stadium der Prophase, andere in der Metaphase[1,3]. Die einzelnen Stadien scheinen also stoffliche Besonderheiten zu besitzen. Zum zweiten erscheint bemerkenswert, daß viele „karyoklastische Gifte" im weiteren Sinne Farbstoffe sind. Dies gilt aber auch von den krebserregenden Stoffen. Eine Beziehung zwischen beiden Wirkungen wird durch weitere Ergebnisse[4] angedeutet, die zeigen, daß eine Reihe cancerogener Substanzen die Kernteilung ähnlich stören wie die „karyoklastischen" Gifte und daß dieser Wirkung bei der Krebserzeugung vielleicht eine besondere Bedeutung zukommt. Bei der histologischen Untersuchung von Geweben, die der Wirkung cancerogener Stoffe unterliegen, ist auch uns stets als bereits früh auftretendes Symptom eine schwere Schädigung der Zellkerne aufgefallen, und zwar in gleicher Weise bei den lokal auftretenden Sarkomen nach Benzpyren-Injektion[5], wie bei den unter der resorptiven Wirkung von Dimethylaminoazobenzol sich entwickelnden Lebercarcinomen[6].

Da der Zellkern an den differenzierten Funktionen der Zellen kaum beteiligt ist, sondern nur für die Teilung eine beherrschende Bedeutung besitzt, ist es verständlich, daß am Zellkern angreifende Pharmaca auf die Dauer z. B. schwere Organschäden verursachen können, ohne daß im Augenblick Störungen der Funktion des Organs, die ja im Cytoplasma lokalisiert ist, in Erscheinung zu treten brauchen. Solche Wirkungen beanspruchen ein besonderes toxikologisches Interesse, zumal hierher gehörende Stoffe in der zivilen und beruflichen Umwelt des Menschen eine nicht geringe Rolle spielen.

Die Hoffnung, durch „karyoklastische" Gifte die Zellteilung stark wachsender Gewebe (Krebs) hemmen zu können, hat sich bisher nicht erfüllt. Da diese Stoffe (z. B. Colchicin) aber schon in ganz niedrigen Dosen, die am Tier keine Funktionsstörungen verursachen, alle auftretenden Mitosen in einem bestimmten Stadium „fixieren", ist durch ihre Anwendung eine Möglichkeit gegeben, aus der Zahl der in den verschiedenen Geweben gefundenen Mitosen festzustellen, in welchen Geweben in einer bestimmten Zeit Wachstumsvorgänge stattgefunden haben. Mit der Colchicinmethode kann also bestimmt werden, ob ein Stoff (Hormon) auf irgendein Organ

[3] v. Möllendorf, W., u. M. Ostrouch: Z. Zellf. u. mikr. Anat. **29**, 323 (1939); Bucher, O.: Zellforsch. usw. **29**, 283 (1939). — [4] v. Möllendorff, Klin. Wschr. **18**, 1098 (1939); Lewis: Science **81**, 545 (1935); Creech, E. M. H.: Amer. J. Canc. **35**, 191 (1939). — [5] Brock, N., H. Druckrey u. H. Hamperl: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 709 (1938); Arch. klin. Chir. **194**, 250 (1939). — [6] Erscheint später in der Z. Krebsforsch.

oder Gewebe (Gewebskultur) spezifische wachstumsanregende Wirkung besitzt oder nicht [1]. Von dieser Möglichkeit wird bereits mit bestem Nutzen Gebrauch gemacht.

Eine weitere sehr wichtige Frage ist die, ob es mit solchen Substanzen möglich ist, Mutationen auszulösen.

Mit diesen Ausführungen soll nur angedeutet sein, daß sich hier der pharmakologisch-toxikologischen Forschung ein bisher kaum bekanntes und höchst wichtiges Gebiet eröffnet.

Die Frage, ob ein Stoff tatsächlich Veränderungen am Zellkern bewirkt und in welcher Weise er insbesondere die Vorgänge bei der Teilung stört, wird wohl vor allem von der morphologischen Forschung letzthin entschieden werden müssen [1–4]. Ihrer Beurteilung weniger zugänglich ist die zunächst wichtigere Frage, ob nämlich eine solche Wirkung sich spezifisch gegen die Zellteilung richtet, andere Zellbestandteile oder Funktionen also praktisch unbeeinflußt läßt, oder ob die an sich nachweisbare Kernschädigung nicht vielleicht nur ein Ausdruck einer Allgemeinschädigung der Zelle, also unspezifisch ist. Um hier Klarheit zu gewinnen, müßte untersucht werden, welche Dosis von einer bestimmten Substanz notwendig ist, um Kernveränderungen hervorzurufen und welche Dosis gebraucht wird, um Funktionen zu stören, die im Cytoplasma lokalisiert sind. Ein Vergleich der beiden Dosen würde einen Anhaltspunkt dafür geben können, ob die Substanz als spezielles „Kerngift" in Frage kommt oder ob sich die Wirkung vorwiegend auf cytoplasmatische Funktionen erstreckt.

Einen analogen Versuch — allerdings in einem anderen Zusammenhang — unternahm Lipschitz [7]. Er verglich die atmungshemmende Wirkung verschiedener Chemotherapeutica einmal auf bestimmte Bakterien und zum anderen auf Warmblütergewebe, um damit einen „chemotherapeutischen Index" zu finden. Bieling [8] hielt ihm mit Recht entgegen, daß es falsch sei, die Atmungshemmung bei Bakterien als Kriterium für eine chemotherapeutische Wirkung zu verwenden, weil zwar bei vielen Stoffen die Hemmung der Atmung der zelltötenden Wirksamkeit parallel ginge, einzelne wichtige Stoffe aber vollkommen herausfielen, die in einer bestimmten Dosis bereits die Entwicklung stark hemmen, ohne die Atmung nachweisbar zu beeinflussen. Auf der anderen Seite zeigten Voegtlin und Chalkley [9], daß Kohlenoxyd zwar die Atmung von Amoeba proteus vergiftet, aber auf die Zellteilung kaum wirksam ist. Beide Funktionen sind also sicher nicht sehr eng miteinander verknüpft.

Da der Atmungsstoffwechsel der Zelle im Cytoplasma lokalisiert ist und der Zellkern sich an ihm praktisch nicht beteiligt, erscheint es berechtigt, aus bestimmten, nach Zugabe eines Stoffes beobachteten Änderungen des

[7] Lipschitz, W.: Klin. Wschr. **2**, 1689 (1923). — [8] Bieling, R.: Z. Hyg. usw. **100**, 270 (1923). — [9] Voegtlin, C., u. H. W. Chalkley: Protoplasma (D.) **24**, 365 (1935).

Sauerstoffverbrauchs auf eine Wirkung zu schließen, die sich auf das Cytoplasma erstreckt, sofern es sich nicht um Stoffe besonderer Art gehandelt hat (Katalysatoren, Substrate o. a.), die an andere Zusammenhänge denken lassen.

Auf der anderen Seite wären jene Stoffe mit Wahrscheinlichkeit als „Kerngifte" anzusehen, die die Zellteilung hemmen, weil bei dieser der Kern eine besondere Rolle spielt. Hierbei ist jedoch zu berücksichtigen, daß die Teilung des Zellkerns und des Zelleibs zwar gewöhnlich eng miteinander verknüpft, doch aber nicht gleichzusetzen sind. Voegtlin und Chalkley[10] fanden z. B., daß reduziertes Glutathion bei Amoeben bestimmter Größe die Teilung des Zellkerns stärker fördert als die Teilung des Cytoplasmas.

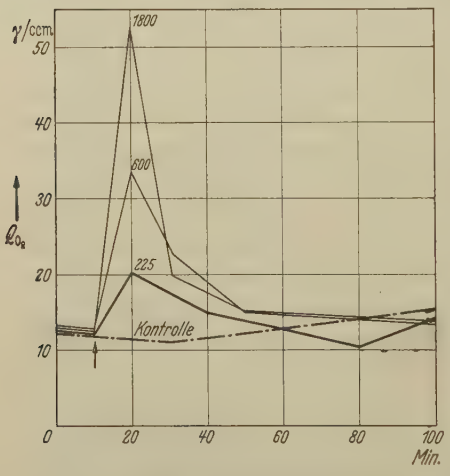


Abb. 1. Wirkung verschiedener Konzentrationen einer zellschädigenden Substanz (Hypophysenextrakt) auf die Atmung befruchteter Seeigeleier. Konzentrationen in γ/ccm.

Hier schließen sich unsere Versuche an. In den vergangenen Jahren haben wir eine Reihe von Stoffen der verschiedensten Art auf ihre zellteilungshemmende Wirkung an befruchteten Seeigeleiern untersucht[11]. Hier handelt es sich um ein Objekt, dessen normale Entwicklung in kurzer Zeit leicht kontrollierbare Stufen durchläuft, so daß eine Beeinflussung der Zellteilung klar festgestellt werden kann. Ferner haben wir gefunden, daß eine große Anzahl schädigender Eingriffe an derselben Zellart sowie auch an Warmblütergeweben eine charakteristische Änderung des Sauerstoffverbrauchs, der nach Warburg[12] gemessen wurde, verursacht, nämlich je nach der Höhe der Dosis eine mehr oder weniger starke Steigerung, die im Mittel etwa eine halbe Stunde anhielt (Abb. 1) und mehrere hundert Prozent betrug.

In ausführlichen Arbeiten[13] haben wir den Nachweis geführt, daß diese Atmungssteigerung eine unmittelbare Folge der Schädigung ist und demgemäß auch durch die verschiedensten zellschädigenden Eingriffe in gleicher Weise ausgelöst werden kann. Die Atmung der geschädigten Zelle ist also keineswegs immer gegenüber der normalen herabgesetzt, sondern mindestens

---

[10] Voegtlin, C., u. H. W. Chalkley: Publ. Health Rep. (Am.) **45**, 3041 (1931). — [11] Druckrey, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 196 (1938). — [12] Warburg, O.: Über den Stoffwechsel der Tumoren. Berlin 1926. — [13] Druckrey, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 231 (1936); Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Ebenda **188**, 436, 451 (1938).

vorübergehend gerade gesteigert. Viele Stoffe bewirken in sicher zellschädigender Dosis auch nach der anfänglichen Steigerung keine Atmungshemmung (Abb. 1) oder erst so spät, daß sie sich dem Nachweis entzieht. Die kurze Atmungssteigerung nach schädigenden Eingriffen ist also ein weit empfindlicherer und zuverlässigerer Test als die Hemmung. Überdies ist die Wahrscheinlichkeit, während des Versuchs noch lebende Zellen vor sich zu haben, im ersten Fall ebenfalls wesentlich größer, während ein nach schwerer Schädigung noch gefundener stark gesunkener Sauerstoffverbrauch nicht ohne weiteres als Stoffwechsel noch lebender Zellen angesprochen werden kann.

Für unsere Fragestellung war es nun von Interesse, ob die Wirkung der verschiedenen Stoffe auf die Zellteilung ihrer Wirkung auf die Atmung parallel geht, oder ob es Stoffe gibt, die in beiden „Tests" verschieden wirksam sind. Als „Kerngifte" würden dann mit Wahrscheinlichkeit jene Stoffe anzusehen sein, die die Zellteilung stark hemmen, ohne den Stoffwechsel nennenswert zu beeinflussen, während umgekehrt die speziellen „Cytoplasmagifte" sich durch eine besondere Wirksamkeit auf den Stoffwechsel kennzeichnen müßten, ohne die Zellteilung irgendwie zu stören. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle der für die Auslösung eines „Schädigungsstoffwechsels" und für die vollständige Hemmung der Zellteilung notwendigen Grenzdosen verschiedener Substanzen.

Substanz	Notwendige Konzentration in γ/ccm für		$\frac{\text{I}}{\text{II}}$
	I Stoffwechselwirkung	II Hemmung der Zellteilung	
Colchicin	> 1500	1,5	1000
Cholestenonsulfosaures Natrium	> 1000	5	200
Nicotin	10 000	165	60
Kephalin	< 60	1,5	< 40
Coffein	$\gg 3000$	500	> 10
Emetin	100	5	20
Sublimat	30	1,5	20
Allylformiat	2000	200	10
Ammoniak	$>$ n/25	$\sim$ n/250	10
Phenylurethan	800	165	5
Chinin	400	125	3
Saponin	100	100	1
Arsenik	100	150	0,7
Natronlauge	n/200	n/120	0,6
Pepton	600	3000	0,2
Säuren	$\sim$ n/7000	$\sim$ n/500	$\sim$ 0,1
Veratrin	50	500	0,1

Als wirksame Dosis ist die Konzentration in γ/ccm bezeichnet, die gerade ausreicht, um in einem Falle die Zellteilung der befruchteten Seeigeleier

vollständig * zu hemmen, im anderen Falle eine Steigerung des Sauerstoffverbrauchs um 100% zu bewirken. Die Zahlen in der dritten Spalte geben das Verhältnis der auf den Stoffwechsel zu den auf die Zellteilung wirksamen Dosen wieder. Je größer der Wert dieses Quotienten ist, um so spezifischer ist also die Wirkung auf die Zellteilung.

Die Quotienten um 1 besagen, daß die betreffende Substanz beide Wirkungsqualitäten in gleicher Weise besitzt, während die niedrigen Werte eine ausgesprochene Wirkung auf das Cytoplasma andeuten (siehe Tabelle). Hierbei ist jedoch zu berücksichtigen, daß die Zellsuspensionen bei den Stoffwechselversuchen aus methodischen Gründen wesentlich dichter sein mußten als in den Zellteilungsversuchen. Daher sind die Dosen bei den Stoffwechselversuchen und damit auch die Quotienten relativ zu hoch angegeben. Das wesentliche Ergebnis dieser Versuche ist, daß neben einer Reihe von Stoffen, die auf die Zellteilung und den Stoffwechsel gleich wirksam sind, auch solche festgestellt wurden, die in der einen Versuchsanordnung um ein Vielfaches stärker wirksam waren als in der anderen. Eine Anzahl der untersuchten Stoffe zeigte die interessante und in diesem Umfang kaum erwartete Eigenschaft, die eine Wirkungsqualität im stärksten Maße zu besitzen, ohne in der anderen Versuchsanordnung auch nur die geringste Wirksamkeit zu zeigen.

Die Auswahl der Stoffe erfolgte ohne bestimmtes System, vielmehr mit der Absicht, Vertreter möglichst verschiedener Stoffklassen zu untersuchen, um zunächst einmal Klarheit darüber zu gewinnen, ob solche Unterschiede überhaupt nachweisbar sind, welches Ausmaß sie haben und ob die gewählte Versuchsanordnung wertvolle Anhaltspunkte zu liefern vermag.

Die starke Wirksamkeit des Colchicins auf die Zellteilung haben wir bereits im Jahre 1936 beobachtet[11], aber nicht ausführlich beschrieben, weil dies in umfassender Form inzwischen von Dustin[1] geschehen ist. Unsere vorliegenden Versuche, die an verschiedenem Eimaterial und in verschiedenen Jahren stets reproduziert werden konnten, deuten darauf hin, wie spezifisch die „karyoklastische" Wirksamkeit des Colchicins ist. Selbst die höchsten überhaupt in Meerwasser löslichen Konzentrationen waren am Stoffwechsel ohne jede Wirkung, während die Zellteilung noch bei einer Verdünnung von 10^{-6} sehr stark gehemmt wurde. Die Wirkungslosigkeit des Colchicins auf die Atmung von befruchteten Seeigeleiern ist insofern besonders überraschend, als seine Wirksamkeit sonst gerade von der Stärke der Oxydationsprozesse abhängig ist und das Seeigelei nach der Befruchtung einen sehr starken Sauerstoffverbrauch hat.

* Die theoretisch korrektere Bestimmung der „mittleren wirksamen Dosis", also hier die Dosis, die bei 50% der Zellen die Teilung hemmt, ist in diesem Falle nicht durchführbar, weil in diesem Dosenbereich auch an sich normale, aber verzögerte und ferner rechtzeitige, aber abnormale Teilungen neben ungeteilt gebliebenen, sowie normal und rechtzeitig geteilten Zellen vorkommen, so daß eine einwandfreie Erfassung der gestörten Zellteilungen in Prozenten unmöglich erscheint.

Besonderes Interesse verdient die Wirkung des Coffeins. Schon bei früheren Untersuchungen, über die wir ausführlich berichtet haben, war uns aufgefallen, daß das Coffein die Entwicklung und Zellteilung befruchteter Seeigeleier der verschiedensten Arten stark hemmt [14] und gleichzeitig — besonders bei Anwendung höherer Dosen — zu einer gewaltigen Vergrößerung der Zellkerne führt [11, 14]. Bei etwas geringeren Dosen unterblieb ebenfalls jede Zellteilung, wohl aber teilten sich die Zellkerne, wenn auch unregelmäßig, noch weiter, so daß eine größere Anzahl Zellen bis zu sieben Kernen aufwies. Das könnte darauf hindeuten, daß das Coffein bei der Hemmung der Zellteilung weniger am Kern angreift, sondern gerade die der Kernteilung folgende Teilung des Zelleibs hemmt, also als „Cytoplasmagift" anzusehen ist. Indessen erwies sich die Kernteilung stets empfindlich gestört. Wir möchten deshalb annehmen, daß auch hier das Ausbleiben der Zellteilung auf eine Schädigung des Zellkerns zu beziehen ist. Dies um so mehr, als weitere Versuche in sehr klarer Form zeigten, daß das Coffein selbst in höchsten Dosen, die bei weitem jede Zellteilung unterdrücken, auf Funktionen des Cytoplasmas gar keine Wirkung hat. Wurde nämlich das Coffein nicht kurz nach der Befruchtung den Seeigeleiern zugegeben, sondern erst im Blastula-Stadium, in dem sie sich aktiv und lebhaft im Wasser fortbewegen, so wurde die Lebenstätigkeit auch über Stunden und Tage nicht im geringsten beeinflußt. Die Keime bewegten sich trotz der Anwesenheit des Coffeins genau so lebhaft und boten das gleiche Bild wie die Kontrollen. Lediglich die Zellteilung und die Entwicklung war vollständig aufgehoben. Die Keime blieben während der ganzen Beobachtungszeit von einer Woche trotz normaler Lebenstätigkeit auf dem Blastula-Stadium stehen, während die Kontrollen 14 Stunden später gastruliert und nach weiteren 40 Stunden das Larvenstadium erreicht hatten. Die Coffeinwirkung hat also lediglich die Zellteilung und Entwicklung getroffen, ohne die Zelle sonst nachweisbar zu schädigen. Dem entspricht auch das vorliegende Ergebnis von der vergleichenden Wirkungsprüfung des Coffeins im Stoffwechsel und im Zellteilungsversuch. Selbst die höchsten überhaupt herstellbaren Konzentrationen von Coffein in Meerwasser hatten gar keinen Einfluß auf die Höhe des Atmungsstoffwechsels. Wie diese besondere Wirkungsweise des Coffeins zu verstehen ist, kann zunächst ebensowenig erklärt werden wie die Stellung der meisten anderen Stoffe in der aufgestellten Reihe.

Die starke Wirkung des Emetins und Kephalins auf die Zellteilungsvorgänge ist eine interessante Illustration ihrer chemotherapeutischen Wirkung. Auch die bakterizide Wirkung des Sublimats erscheint hier in besonderem Licht. Es mag überhaupt überraschen, daß auch andere Pharmaka, bei denen zunächst an eine Schädigung des Cytoplasmas ge-

[14] Druckrey, H., u. E. Schreiber: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 208 (1938); H. Druckrey: Z. Krebsforsch. **47**, 13 (1938).

dacht wird, wie z. B. das Allylformiat, sich hier etwas anders verhalten. Vielleicht spielt der viel vernachlässigte Zellkern bei den „Entzündungsprozessen" doch eine gewisse Rolle. Eine sehr wichtige Andeutung dafür ist das interessante Ergebnis [15], daß der Primärvorgang bei der Erythemerzeugung durch ultraviolette Strahlen in einer Schädigung der Zellkerne besteht, wobei der Bestrahlungseffekt offenbar an der Nucleinsäure angreift.

Beim Phenylurethan war es bereits Warburg [12] und Bieling [8] aufgefallen, daß durch diese Substanz die Zellteilung viel stärker gehemmt wird als die Atmung. Daher wies auch Bieling mit Recht darauf hin, daß es Substanzen gäbe, bei denen beide Wirkungen nicht quantitativ parallel verliefen. Unsere Versuche zeigen, daß andere Stoffe diesen Unterschied in noch mehr als 100fach größerem Umfange aufweisen als das Phenylurethan. — Beim Chinin liegt der Quotient bereits nahe an 1.

Weiter erscheint bemerkenswert, daß Säuren (ohne wesentlichen Unterschied zwischen organischen und Mineralsäuren *) auf den Stoffwechsel viel wirksamer sind als auf die Zellteilung und daß die Basen sich etwa umgekehrt verhalten, also stärker die Zellteilung hemmen. Das lipoidlösliche Ammoniak ist dabei auf die Zellteilung wirksamer als Natronlauge, das ist nach den Vitalfärbungsversuchen von Warburg [12] verständlich. Auf die Atmung war dagegen gerade die Natronlauge wirksam, während Ammoniak gar keine Wirkung hatte.

Die stärkste stoffwechselwirksame Substanz war das Veratrin, das damit dem Colchicin gegenübersteht. Stoffe, die auch in einer 0,3%igen Lösung keinen erkennbaren Einfluß auf die Zellteilung hatten, waren: Aconitin, Cholin, Histamin, Histidin, Germanin, Jodkalium.

Die vorliegenden Versuche sollen lediglich zeigen, daß die im Stoffwechselversuch ermittelte „schädigende" Wirksamkeit eines Stoffes auf lebende Zellen durchaus nicht immer seiner „schädigenden" Wirksamkeit auf die Zellteilung entspricht, sondern daß es Stoffe gibt, die geradezu spezifisch die eine der beiden Funktionen beeinflussen, ohne auf die andere überhaupt nachweisbare Wirkungen zu entfalten. Zwischen beiden Extremen gibt es eine ganze Stufenskala von Stoffen, die beide Wirkungen in verschiedenem Maße zeigen. Da der Atmungsstoffwechsel im Cytoplasma lokalisiert ist, die Zellteilung dagegen vor allem vom Zellkern gesteuert wird, kann die hier gewählte Versuchsanordnung wichtige Anhaltspunkte dafür liefern, ob ein Pharmakon vielleicht einen speziellen Angriffspunkt im Zellkern oder Cytoplasma hat.

Die Versuche haben zunächst rein orientierende Bedeutung. Die Auswahl der untersuchten Stoffe erfolgte, wie bereits gesagt, dem gemäß auch

[15] Hamperl, H., U. Henschke u. R. Schulze: Naturw. **27**, 486 (1939); Virchows Arch. **304**, 19 (1939).

* Das erklärt sich wohl daraus, daß es sich letzten Endes um eine Wirkung des CO_2 handelt, das durch die stärkeren Säuren aus dem Meerwasser in Freiheit gesetzt wird (12).

noch nicht nach bestimmten leitenden Gesichtspunkten, sondern beabsichtigte vielmehr, Beispiele aus möglichst verschiedenartigen Stoffklassen heranzuziehen. Die Ergebnisse zeigen, wie wenig Voraussagen auf diesem Gebiete möglich sind und welcher Mühe es noch bedarf, um Gesetzmäßigkeiten zu erkennen. Dafür scheint aber die gewählte Versuchsanordnung wertvoll zu sein. Dies um so mehr, als Wirkungen, die sich auf den Zellkern erstrecken, in zunehmendem Maße an pharmakologischem Interesse gewinnen.

Zusammenfassung.

Die vergleichende Untersuchung der Wirksamkeit verschiedener Substanzen einmal auf den Stoffwechsel und zum anderen auf die Zellteilung von Seeigeleiern wird als Kriterium benutzt, um Hinweise dafür zu gewinnen, welche Stoffe eine spezifische Wirkung auf den Zellkern entfalten.

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut (Direktor: Prof. P. Holtz) und dem Pharmakologischen Institut (Direktor: Prof. E. Ruickoldt) der Universität Rostock.

Aminbildung durch Darm.

Von

P. Holtz, K. Credner und A. Reinhold.

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 2. Oktober 1939.)

Meerschweinchendarm enthält ein Ferment, welches die Aminosäure l-Dioxyphenylalanin (Dopa) zu Oxytyramin decarboxyliert [1]. Während die Dopa-decarboxylase sich bei zahlreichen Tierarten in Niere und Leber findet [2], kommt sie nur beim Meerschweinchen im Darmgewebe vor. Im Darm von Kaninchen, Katze, Hund, Rind, Schwein, Hammel, Ziege, Ratte und Maus läßt sie sich nicht nachweisen. — Das Vorkommen des Ferments im Meerschweinchendarm ist beschränkt auf die oberen Darmabschnitte, in Dickdarm und Rectum fehlt es. Seine Wirkung ist, wie das auch für die in früheren Arbeiten [3] untersuchte Histidin- und Tyrosin-decarboxylase zutrifft, optisch spezifisch. Nur das optisch natürliche l-Dioxyphenylalanin wird decarboxyliert.

Den Nachweis der Fermentwirkung führten wir, indem wir die blutdrucksteigernde Wirkung des durch Decarboxylierung entstandenen Oxytyramins als Kriterium benutzten, weiterhin dadurch, daß wir die unter anaeroben Versuchsbedingungen aus der Aminosäure abgespaltene Kohlensäure manometrisch maßen. In einer Arbeit über das Vorkommen der Dopa-decarboxylase im Nierengewebe war das Produkt der Fermentwirkung, Oxytyramin, auch chemisch identifiziert worden.

In der vorliegenden Arbeit wird untersucht, ob neben der Dopa-decarboxylase das entsprechende auf Histidin und Tyrosin eingestellte Ferment, das wir bisher nur in Niere und Leber fanden, auch im Darm, dem dritten für den Abbau der Aminosäuren wichtigen Organ, vorhanden ist.

Versuchsergebnisse.

1. Oxytyraminbildung aus l-Dioxyphenylalanin durch fötales Gewebe.

Es ist bekannt, daß die Darmflora aminbildende Bakterien enthält. Beim Nachweis der Dopa-decarboxylase im Gewebe des Meerschweinchen-

[1] Holtz, P., A. Reinhold u. K. Credner: Z. physiol. Chem. **261**, 278 (1939). [2] Holtz, P., R. Heise u. K. Lüdtke: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **191**, 87 (1938). — [3] Holtz, P., u. R. Heise: Ebenda **186**, 377 (1937); Holtz, P., u. H. Janisch: Ebenda, S. 684; Holtz, P.: Klin. Wschr. **1937**, S. 1561; Z. physiol. Chem. **251**, 226 (1938).

darms hatten wir eine etwaige Bakterienwirkung auszuschalten versucht, indem wir den Darm in Oxychinolinlösung legten und die Versuchsansätze mit Toluol versetzten. Daß die unter diesen Vorsichtsmaßnahmen beobachtete Aminbildung nicht bakteriell bedingt war, sondern durch ein im Gewebe des Meerschweinchendarmes vorhandenes Ferment, wurde dann ferner noch dadurch besonders wahrscheinlich, daß es nur mit Extrakten aus Meerschweinchendarm, nicht aber mit dem Darmextrakt der zahlreichen anderen untersuchten Tierarten möglich war, die Aminosäure in das Amin umzuwandeln. Trotzdem haben wir zunächst versucht, die fermentative Oxytyraminbildung durch Darmgewebe unter Ausschluß bakterieller Mitwirkung weiterhin zu sichern, indem wir Versuche mit

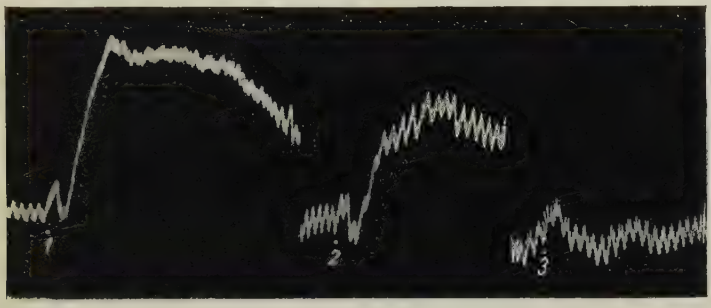


Abb. 1. Oxytyraminbildung durch fötale Kaninchenorgane.
Katze. Pernoctonnarkose. 1 mg Atropin. sulfur. pro kg intramuskulär. Blutdruck in der Art. femoralis. 5 ccm Nieren-, Leber- und Dünndarmextrakt + 10 mg l-Dopa in 5 ccm aqu. dest.: 4 Stunden in H_2-Atmosphäre bei 37°.
1 = 2 ccm Nierenextrakt + Dopa.
2 = 2 ccm Leberextrakt + Dopa.
3 = 2 ccm Dünndarmextrakt + Dopa.

fötalem Darm unter sterilen Versuchsbedingungen ansetzten. Wir haben dann auch Versuche mit fötaler Niere und Leber angeschlossen, um zu erfahren, ob das Ferment überhaupt schon vor der Geburt gebildet wird.

Methodisches. Wie in den früheren Arbeiten wurden auch jetzt die meisten Versuche mit Organextrakten angesetzt. Das betreffende Organ wurde mit Quarzsand verrieben und mit m/20 Natriumphosphat vom p_H 7,4 im Verhältnis 1 : 5 extrahiert. Die nach dem Zentrifugieren überstehende Lösung diente als „Phosphatextrakt". — Der Darm wurde vorher dem Mesenterialansatz entlang aufgeschnitten, mit Wasser gesäubert und 10 Minuten lang in eine Oxychinolinlösung 1 : 10000 gelegt. Fötale Organe wurden unter sterilen Kautelen entnommen und verarbeitet.

Versuchsansatz. 5 ccm Phosphatextrakt + 10 mg l-Dioxyphenylalanin bzw. 20 mg l-Histidin-monochlorhydrat (neutralisiert) bzw. 10 mg Tyrosin in 5 ccm aqu. dest. werden mit 0,5 ccm Toluol versetzt und in N_2- oder H_2-Atmosphäre mehrere Stunden bei 37° gehalten. — (Der biologische Nachweis des Amins ist nur möglich, wenn die Versuchslösungen unter O_2-Ausschluß angesetzt werden, da bei O_2-Gegenwart das entstandene Amin durch die Aminoxydase zerstört wird.)

Prüfung der Versuchslösungen im Blutdruckversuch an der mit Pernocton narkotisierten, atropinisierten Katze (1 mg Atropin. sulfur. pro kg intramuskulär).

Die Abb. 1 zeigt einen Versuch mit fötalen Kaninchenorganen. Fötale Niere und Leber bilden aus zugesetztem Dopa gut nachweisbare

Mengen Oxytyramin. Die Dopa-decarboxylase liegt also schon vor der Geburt in wirksamer Form vor. - Im fötalen Darm hingegen läßt das Ferment sich nicht nachweisen. Es kann aber, wie schon erwähnt, auch im Darm des erwachsenen Kaninchens nicht nachgewiesen werden.

Im Gegensatz hierzu wirkt fötaler Meerschweinchendarm in gleicher Weise wie derjenige des erwachsenen Tieres decarboxylierend (Abb. 2). Hiermit darf das Vorkommen der Dopa-decarboxylase auch im Darmgewebe des Meerschweinchens als bewiesen gelten.

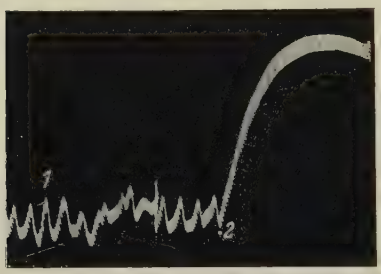


Abb. 2. Oxytyraminbildung durch fötalen Meerschweinchendarm.
Katze. Pernoctonnarkose. 1 mg Atropin. sulfur. intramuskulär. Blutdruck in der Art. femoralis. 5 ccm Phosphatextrakt aus Meerschweinchendünndarm + 10 mg l-Dopa in 5 ccm aqu. dest. (Kontrolle: 5 ccm Phosphatextrakt + 5 ccm aqu. dest.): 5 Stunden in H_2-Atmosphäre bei 37°.
1 = 1 ccm Dünndarmextrakt ohne Dopa.
2 = 1 ccm Dünndarmextrakt + Dopa.

2. Einwirkung von Darmextrakten auf l-Histidin und l-Tyrosin.

Aus der Abb. 3 geht hervor, daß Extrakte aus Meerschweinchendarm Histidin zu Histamin decarboxylieren. Da auch der fötale Darm hierzu

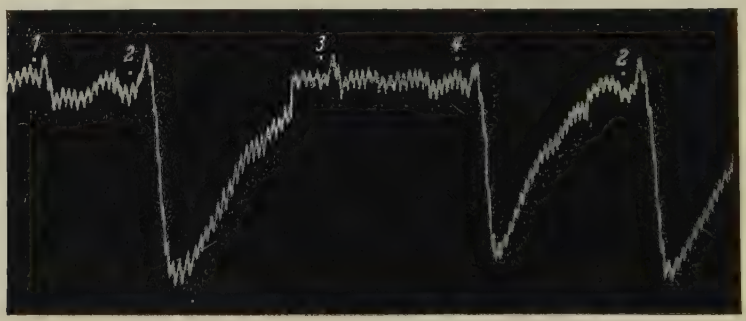


Abb. 3. Histaminbildung durch Meerschweinchendarm.
Katze. Pernoctonnarkose. 1 mg Atropin. sulfur. pro kg intramuskulär. Blutdruck in der Art. femoralis. 5 ccm Dünndarmextrakt + 20 mg Histidin-hydrochlorid (neutralisiert) in 5 ccm aqu. dest.: 7 Stunden in N_2-Atmosphäre bei 37°.
1 = 1,5 ccm Dünndarmextrakt (erwachsen) ohne Histidin.
2 = 1,5 ccm Dünndarmextrakt (erwachsen) + Histidin.
3 = 1,5 ccm Dünndarmextrakt (fötal) ohne Histidin.
4 = 1,5 ccm Dünndarmextrakt (fötal) + Histidin.

in der Lage ist, sind die Ergebnisse beweisend für das Vorhandensein einer Histidin-decarboxylase im Darmgewebe. — Ein Vergleich zwischen der Wirksamkeit gleicher Gewichtsmengen von Niere und Darm zeigt, daß beide Organe ungefähr gleichviel Histidin-decarboxylase enthalten. Niere ist meistens etwas wirksamer (Abb. 4).

Entsprechend der Verteilung der Dopa-decarboxylase auf die einzelnen Darmabschnitte ist auch die Histidin-decarboxylase hauptsächlich im Dünndarm lokalisiert. Mit Dickdarmextrakt erhielten wir nur unregelmäßig und dann nur ganz schwache Wirkungen, mit Extrakten aus Rectum überhaupt keine. Ebenso wie die Dopa-decarboxylase kommt auch das auf Histidin eingestellte Ferment nur im Darm des Meerschweinchens vor.

In mehreren Versuchen mit Tyrosin konnten wir eine Tyraminbildung durch Darmgewebe nicht nachweisen.

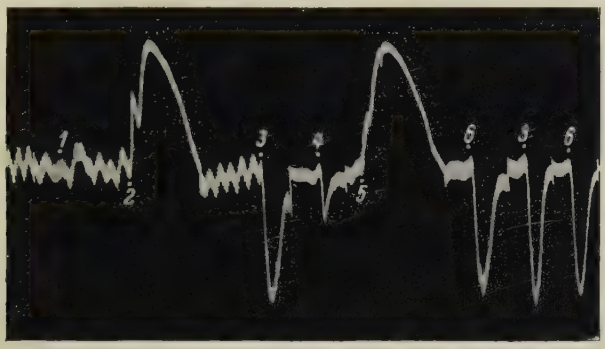


Abb. 4. Oxytyramin- und Histaminbildung durch Meerschweinchenniere und Meerschweinchendarm Katze. Pernoctonnarkose. 1 mg Atropin. sulfur. pro kg intramuskulär. Blutdruck in der Art. femoralis. .5 ccm Nieren- bzw. Dünndarmextrakt + 10 mg l-Dopa bzw. 20 mg Histidin-hydrochlorid (neutralisiert) in je 5 ccm aqu. dest. 6 Stunden in N_2-Atmosphäre bei 37°.

1 = 1 ccm Nierenextrakt.
2 = 0,5 ccm Nierenextrakt + Dopa.
3 = 0,5 ccm Nierenextrakt + Histidin.
4 = 1 ccm Dünndarmextrakt.
5 = 1 ccm Dünndarmextrakt + Dopa.
6 = 0,5 ccm Dünndarmextrakt + Histidin.

Bemerkungen.

Es liegt nahe, die Frage nach der biologischen Bedeutung der Versuchsergebnisse zu stellen. Eine Aminbildung durch decarboxylierende Fermente der Darmwand, insbesondere vielleicht die unter gewissen Bedingungen gegebene Möglichkeit einer fermentativen Entstehung von Histamin im Darmgewebe könnte geeignet sein, die Auffassung und Deutung von Krankheitsbildern, die man in Zusammenhang bringt mit einem Übertritt dieser sehr wirksamen Stoffe aus dem Darm ins Blut, zu beeinflussen. Die Bedingungen, unter denen die aus zugeführten Aminosäuren entstehenden Amine auftreten und wirksam werden können, sind in unseren Versuchen vor allem durch die Abwesenheit von Sauerstoff bzw. durch den Mangel an Sauerstoff gekennzeichnet. — Ein näheres Eingehen auf die Frage nach der klinischen Bedeutung erübrigt sich jedoch, da die bei der von uns angewandten Versuchsanordnung wenigstens bisher gemachten Beobachtungen nur für den Darm des Meerschweinchens zutreffen.

Zur Frage nach der Spezifität der Aminosäure-decarboxylasen kann auf Grund der bisherigen Befunde folgendes gesagt werden: Eine gewisse Substratspezifität der Decarboxylasen wird deutlich bei einem Vergleich der Aminmengen, die aus den drei untersuchten Aminosäuren gebildet werden. Aus unseren früheren Untersuchungen geht hervor, daß durch Organextrakte, die aus Histidin 200—300 γ Histamin bilden, aus Tyrosin ungefähr 2 mg Tyramin und aus Dopa mehr als 10 mg Oxytyramin gebildet werden können. — Andererseits könnte für eine Identität der Dopa- und Histidin-decarboxylase ihr gemeinsames Vorkommen sprechen. In allen Organen und bei allen Tierarten, bei denen sich das oxytyraminbildende Ferment findet — in Niere und Leber fast sämtlicher Tierarten, im Dünndarm des Meerschweinchens —, kann auch das histaminbildende Ferment nachgewiesen werden. Und überall da, wo die Dopa-decarboxylase fehlt — im Meerschweinchendickdarm und Meerschweinchenrectum, im Darm aller anderen Tierarten —, kommt auch die Histidindecarboxylase nicht vor.

Ehe ein abschließendes Urteil über die Fermentspezifität gegeben werden kann, sind noch Untersuchungen in anderer Richtung erforderlich. Wir sind damit beschäftigt, durch sogenannte Konkurrenzversuche, durch Versuche über selektive Adsorption, sowie durch Vergleichsversuche über das mengenmäßige Verhältnis, in dem die Decarboxylasen in den einzelnen Organen und bei den verschiedenen Tierarten vorkommen, eine Entscheidung zu ermöglichen.

Zusammenfassung.

1. Phosphatextrakte aus Meerschweinchendünndarm decarboxylieren die Aminosäure l-Dioxyphenylalanin (Dopa) zu Oxytyramin.

2. Auch Extrakte aus fötalem Darm wandeln die Aminosäure in das Amin um. Die Aminbildung ist deshalb nicht durch die Tätigkeit von Bakterien, sondern durch ein im Darmgewebe vorhandenes Ferment, die Dopa-decarboxylase, verursacht.

3. Phosphatextrakte aus Meerschweinchendünndarm decarboxylieren Histidin zu Histamin.

4. Dopa-decarboxylase und Histidin-decarboxylase finden sich nur im Dünndarm, nicht im Dickdarm und Rectum. Beide Fermente kommen nur im Darm des Meerschweinchens vor, nicht im Darm von Kaninchen, Katze, Hund, Rind, Hammel, Ziege, Ratte und Maus.

5. Eine Tyrosin-decarboxylase konnte im Meerschweinchendünndarm nicht nachgewiesen werden.

6. Die Frage nach der Spezifität der Aminsosäure-decarboxylasen wird erörtert.

Aus dem pharmakologischen Institut Jena.

Löslichkeitsprodukte zwischen substituierten Phenolen und Acridin

sowie die Bedeutung der verschiedenen Substituenten beim Vergleich mit entsprechenden Phenol-Basenadditionsreaktionen anderer den Pyridinring tragender Basen.

Von

Labes, Krauskopf und Bergstermann.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 24. Juni 1939.)

Labes[1] hat die Fällungsreaktionen zwischen den verschiedensten substituierten Phenolen mit dem Pyridin und den Pyridincarbonsäureestern und -amiden verglichen. Dabei hatte sich ergeben, daß restvalenzarme Substituenten sowohl im Pyridin- als auch im Phenolpartner die Reaktion in unspezifischer Weise desto mehr verstärken, je hydrophober sie sind. Nach den damaligen Beobachtungen verhielten sich aber restvalenzreiche Substituenten wie die Carbamidgruppe und das Hydroxyl höchst spezifisch. Sie können die Phenol-Basenadditionsreaktion außerordentlich fördern, wenn der Reaktionspartner ebenfalls restvalenzreiche Gruppierungen in geeigneter Stellung enthält. Andernfalls hemmen sie die Reaktionen oder unterdrücken sie sogar. Die Untersuchungen wurden durch Bergstermann[2] mit Nöcker und Krauskopf auf die Methylpyridine, durch Labes[3] mit Krauskopf und Bergstermann auf das Chinolin ausgedehnt. In der Dissertation von Nöcker (Dr. phil.), Jena 1939, wurden noch Amino- und Chlorpyridine zur Reaktion herangezogen. In der vorliegenden Arbeit sollen nun noch die Additionsreaktionen zwischen Acridin und den Phenolderivaten beschrieben werden und die gefundenen Gesetzmäßigkeiten mit den früheren Erfahrungen im Hinblick auf die pharmakologische Bedeutung derartiger chemischer Substitutionsregeln verglichen werden.

I. Vorbemerkungen über Acridineigenschaften und Versuchstechnik.

Das Acridin (bezogen von Schering-Kahlbaum) löst sich als Base sehr schlecht; dagegen ließen sich durch Zusatz äquivalenter Mengen Salzsäure leicht bis zu 1/10 mol. Lösungen von salzsaurem Acridin herstellen. Brachten wir fallende Mengen derartiger Acridinsalzlösungen in alkalisch oder neutral gepufferte Reagensglasreihen, so fiel das Acridin bis zu sehr niederen Verdünnungen aus. Seine Löslich-

[1] Labes: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 421 (1938). — [2] Bergstermann, Nöcker u. Krauskopf: Ebenda **191**, 55 (1938). — [3] Labes, Krauskopf u. Bergstermann: Ebenda **192**, 603 (1939).

Acridin-HCl G_N molar	$4 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-}$
Acridin-HCl $D_{N_\varrho} \cdot G_N$ molar	$2{,}4 \cdot 10^{-4}$	$1{,}2 \cdot 10^{-4}$	$6 \cdot 10^{-}$
3% Meta-Aminophenol $G_{Ph} = D_{Ph_\varrho} \cdot G_{Ph}$	$2{,}7 \cdot 10^{-2}$	$5{,}4 \cdot 10^{-2}$	$1{,}08 \cdot 10^{-}$
5,5% Phenol		$5 \cdot 10^{-2}$	$1 \cdot 10^{-}$
1,5% Guajakol	$2{,}4 \cdot 10^{-2}$	$4{,}8 \cdot 10^{-2}$	$9{,}7 \cdot 10^{-}$
2% Para-Kresol	$9{,}3 \cdot 10^{-3}$	$1{,}86 \cdot 10^{-2}$	$3{,}7 \cdot 10^{-}$
2% Meta-Kresol	$1{,}86 \cdot 10^{-2}$	$3{,}7 \cdot 10^{-2}$	$7{,}4 \cdot 10^{-}$
2% Ortho-Kresol		$4{,}7 \cdot 10^{-3}$	$9{,}3 \cdot 10^{-}$
1% Para- und Ortho-Chlorphenol		$8{,}5 \cdot 10^{-4}$	$1{,}7 \cdot 10^{-}$
1% Meta-Chlorphenol	$1{,}85 \cdot 10^{-3}$		$3{,}9 \cdot 10^{-}$
0,2% Para-Oxybenzoesäuremethylester	$2{,}6 \cdot 10^{-3}$		$9{,}1 \cdot 10^{-}$
0,75% Meta-Oxybenzoesäuremethylester	$4{,}93 \cdot 10^{-3}$	$9{,}86 \cdot 10^{-3}$	$1{,}97 \cdot 10^{-}$
0,084% Para-Oxybenzoesäureäthylester	$1{,}01 \cdot 10^{-3}$	$2{,}02 \cdot 10^{-3}$	$4{,}05 \cdot 10^{-}$
0,25% Meta-Oxybenzoesäureäthylester	$7{,}5 \cdot 10^{-4}$	$1{,}5 \cdot 10^{-3}$	$3{,}0 \cdot 10^{-}$
1% Para-Nitrophenol		$8{,}87 \cdot 10^{-4}$	$1{,}77 \cdot 10^{-}$
1% Meta-Nitrophenol		$4{,}43 \cdot 10^{-4}$	$1{,}77 \cdot 10^{-}$
1/8% Ortho-Nitrophenol	$3{,}55 \cdot 10^{-3}$	$7{,}1 \cdot 10^{-3}$	
0,06 mol. Trichlorphenol-Na	$6{,}3 \cdot 10^{-5}$	$1{,}25 \cdot 10^{-4}$	$2{,}5 \cdot 10^{-}$
1/400 mol. α-Naphthol	$1{,}25 \cdot 10^{-4}$	$2{,}5 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-}$
1/400 mol. β-Naphthol	$1{,}25 \cdot 10^{-4}$	$2{,}5 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-}$
1/25 mol. pikrinsaures Na G_{Ph}			
1/25 mol. pikrinsaures Na $D_{Ph_\varrho} \cdot G_{Ph}$			

keitsgrenze lag unter diesen Bedingungen etwa bei 0,004% Acridin. Bei einer $[H^+] = 1{,}3 \cdot 10^{-6}$ war die Acridinlöslichkeit verdoppelt, bei zehnfacher $[H^+]$ verzehnfacht usw., so daß wir daraus den Wert der reziproken Basendissoziationskonstanten zu $k_r = 1{,}3 \cdot 10^{-6}$ schätzten (näheres siehe Inaugural-Dissertation Müller, Jena 1937).

Die Fällungsversuche zwischen Acridin und Phenolderivaten, die immer zu farbarmen kristallinen Produkten führten, wurden fast alle bei der $[H^+] = 2 \cdot 10^{-5}$ untersucht*, bei der das Acridin den Dissoziationsrest $D_{N_\varrho} = 1/16$ aufweist. Die Löslichkeitsprodukte

$$Lp = (D_{Ph_\varrho}(G_{Ph} - n_{Ph}\lambda))^{n_{Ph}} \cdot (D_{N_\varrho}(G_N - n_N\lambda))^{n_N}$$

haben wir nur für die unvollständig verlaufenden Reaktionen berechnet, in denen die molare Löslichkeit λ der Acridin-Phenolderivatverbindung sehr klein gegenüber der Gesamtkonzentration G_{Ph} und G_N an Phenolderivat bzw. Acridin und zu vernachlässigen war.

Bei einigen Phenolpartnern (Phenol, Para-Chlorphenol, Pikrinsäure) haben wir uns davon überzeugt, daß die gefundenen Löslichkeitsprodukte der Theorie[4] entsprechend auch bei anderer $[H^+]$ und anderen Dissoziationsverhältnissen gelten. Folgende Phenol-Derivat-Acridinreaktionen sind in den Inaugural-Dissertationen, Jena 1937—1939, näher beschrieben: Phenol

* Es wurden zu den Reagensglasreihen beim Gesamtflüssigkeitsvolumen von 10 ccm je 1 ccm Acetatpuffer zugesetzt, der aus gleichen Volumenteilen 1/1 mol. Essigsäure und 1/1 mol. Natriumacetat bestand.

[4] Labes: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **174**, 255 (1934).

le 1.

5 $\cdot 10^{-4}$	2,5 $\cdot 10^{-4}$	1,25 $\cdot 10^{-4}$	6,3 $\cdot 10^{-5}$	3,15 $\cdot 10^{-5}$	7,8 $\cdot 10^{-6}$	
3 $\cdot 10^{-5}$	1,5 $\cdot 10^{-5}$	7,5 $\cdot 10^{-6}$	3,78 $\cdot 10^{-6}$	1,89 $\cdot 10^{-6}$	4,68 $\cdot 10^{-7}$	
						$a^1 \cdot b^1$
1,89 $\cdot 10^{-1}$						6 $\cdot 10^{-6}$
2 $\cdot 10^{-1}$	4,1 $\cdot 10^{-1}$					6 $\cdot 10^{-6}$
7,4 $\cdot 10^{-2}$	1,5 $\cdot 10^{-1}$					6 $\cdot 10^{-6}$
1,5 $\cdot 10^{-1}$						2 $\cdot 10^{-6}$
1,86 $\cdot 10^{-2}$	3,7 $\cdot 10^{-2}$	1,5 $\cdot 10^{-1}$				4,5 $\cdot 10^{-6}$
6,8 $\cdot 10^{-3}$	1,4 $\cdot 10^{-2}$		5,4 $\cdot 10^{-2}$			7 $\cdot 10^{-7}$
	1,56 $\cdot 10^{-2}$	6,24 $\cdot 10^{-2}$				1,5 $\cdot 10^{-7}$
						3 $\cdot 10^{-7}$
3,94 $\cdot 10^{-2}$						6 $\cdot 10^{-7}$
						1 $\cdot 10^{-6}$
6,0 $\cdot 10^{-3}$	1,2 $\cdot 10^{-2}$					2,4 $\cdot 10^{-7}$
3,55 $\cdot 10^{-3}$	1,42 $\cdot 10^{-2}$	2,84 $\cdot 10^{-2}$				2 $\cdot 10^{-7}$
3,55 $\cdot 10^{-3}$	7,1 $\cdot 10^{-3}$	1,42 $\cdot 10^{-2}$	2,84 $\cdot 10^{-2}$	5,68 $\cdot 10^{-2}$		2 $\cdot 10^{-7}$
						1 $\cdot 10^{-7}$
5 $\cdot 10^{-4}$		1 $\cdot 10^{-3}$		2 $\cdot 10^{-3}$		8 $\cdot 10^{-7}$
$\cdot 10^{-3}$	2 $\cdot 10^{-3}$					1,5 $\cdot 10^{-8}$
	1 $\cdot 10^{-3}$	2 $\cdot 10^{-3}$				3 $\cdot 10^{-8}$
1,25 $\cdot 10^{-4}$		5 $\cdot 10^{-4}$		2 $\cdot 10^{-3}$	8 $\cdot 10^{-3}$	2 $\cdot 10^{-8}$
1,56 $\cdot 10^{-8}$		6,25 $\cdot 10^{-8}$		2,5 $\cdot 10^{-7}$	1 $\cdot 10^{-6}$	4,7 $\cdot 10^{-13}$

von Müller, Para-Chlorphenol durch Kirst, Kresole durch Krauskopf, Trichlorphenol von Pannier, Pikrinsäure von Westheimer.

Para- und Ortho-Aminophenol konnten wir wegen ihrer leichten Oxydierbarkeit nicht untersuchen, denn das früher zum Oxydationsschutz verwendete Natriumsulfit gab mit dem Acridin orangefarbene Kristalle. Wir hatten eine 0,016 mol. Natriumsulfitlösung $[H^+] = 2 \cdot 10^{-5}$ dadurch hergestellt, daß wir 10 ccm einer 4%igen Lösung von Na_2SO_3, $7\,H_2O$ mit 10 ccm Acetatpuffer $[H^+] = 2 \cdot 10^{-5}$ mischten und mit Aqua dest. auf 100 ccm auffüllten. Bei verschiedenen Vorlagen lagen die Fällungsgrenzen dieses Reaktionsproduktes von Acridin mit schwefliger Säure bei den in folgender Zusammenstellung angegebenen Acridinwerten.

0,016 mol. Na-Sulfit $[H^+] = 2 \cdot 10^{-5}$ ccm	7,0	4,0	2,0	1,0	0,5	0,25
$^1/_{50}$ mol. Acridin-HCl ccm	1,0	1,0	0,5	0,5	1,0	2,0
Gesamtkonzentration vom Sulfit G_S	$1{,}12 \cdot 10^{-2}$	$6{,}4 \cdot 10^{-3}$	$3{,}2 \cdot 10^{-3}$	$1{,}6 \cdot 10^{-3}$	$8 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{-4}$
G_N Acridin-HCl	$2 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-3}$

Auffallend ist bei dieser Reaktion, daß zunächst das gelbe und fluoreszierende Acridin besonders bei hohen Sulfitvorlagen voll entfärbt wird, und daß erst später die orangefarbenen Kristalle ausfallen. Dieses Ausfallen tritt merkwürdigerweise bei den höheren Sulfitvorlagen später ein als bei den etwas niederen.

Nach dem Reaktionsbild hat man den Eindruck, daß sich mehrere Verbindungen mit verschiedenem Sulfitgehalt bilden, wobei die mit höherem etwas löslicher zu sein scheint.

II. Reaktionsdaten der unvollständig verlaufenden Acridin-Phenolderivatreaktionen.

Die Kristallisationsgrenzen der unvollständig verlaufenden Acridin-Phenolderivatreaktionen sind in der Tabelle 1 (s. S. 694) zusammengefaßt. Da im Gegensatz zu den anderen Phenolderivaten bei der Pikrinsäure und $[H^+] = 2 \cdot 10^{-5} G_{Ph}$ und $D_{Ph_\varrho} \cdot G_{Ph}$ verschiedene Werte darstellen, haben wir für dieses Phenolderivat zwei Zeilen gebraucht. Die Zeilen für alle anderen geben gleichzeitig den G_{Ph}-Wert und den $D_{Ph_\varrho} \cdot G_{Ph}$-Wert für das betreffende Derivat wieder. In der ersten Vertikalrubrik haben wir zu den Phenolderivaten zur Erleichterung der Versuchsreproduktion noch die Konzentration der beinahe gesättigten Ausgangslösungen vermerkt.

Die letzte Vertikalrubrik der Tabelle 1 gibt nicht die G_{Ph}-Werte der verschiedenen Phenole wieder, sondern die Löslichkeitsprodukte. Zu Abkürzungszwecken haben wir hier statt $D_{Ph_\varrho} \cdot G_{Ph}$ das Zeichen a gewählt, dieses bedeutet also die Konzentration an undissoziiertem Phenol. Entsprechend bedeutet das Zeichen b eine Abkürzung für die Konzentration $D_{N_\varrho} \cdot G_N$ an undissoziiertem Acridin.

Somit bedeutet das über der letzten Vertikalrubrik stehende Zeichen $a^1 \cdot b^1$ das Löslichkeitsprodukt aus einem Phenolderivatmolekül mit einem Acridinmolekül. Wir sehen daraus, daß die Löslichkeitsprodukte der Phenolsubstitutionsprodukte mit dem Acridin desto kleiner werden, je hydrophober der Substituent und je größer die Zahl dieser Substituenten ist.

Das 0,07% lösliche Methylium salicylicum bei der Vorlage Konzentration $G_{Ph\,I} = 3{,}2 \cdot 10^{-3}$ und das 0,053% lösliche Aethylium salicylicum bei der Vorlagekonzentration $G_{Ph\,I} = 2{,}3 \cdot 10^{-3}$ waren wirkungslos gegenüber dem Acridin, selbst wenn wir dessen Konzentration auf den Höchstwert $G_{N\,I} = 4 \cdot 10^{-3}$ bzw. $D_{N_\varrho} \cdot G_{N\,I} = 2{,}4 \cdot 10^{-4}$ steigerten. Bemerkenswert ist, daß die außerordentlich lösliche Ascorbinsäure trotz ihrer Enolgruppen selbst bei höchsten Zugabemengen mit dem Acridin keine Fällung gibt, sondern nur andeutungsweise die Acridinfluoreszenz abschwächt.

III. Reaktionsdaten der anscheinend vollständiger verlaufenden Acridin-Phenolderivatreaktionen.

1% Meta-Oxybenzoesäureamid $G_{Ph} = D_{Ph_\varrho} \cdot G_{Ph}$	$5{,}8 \cdot 10^{-2}$	$2{,}9 \cdot 10^{-2}$	$1{,}4 \cdot 10^{-2}$	$7{,}2 \cdot 10^{-3}$
$^1/_{50}$ mol. Acridin-HCl G_N molar	$2 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$
Acridin-HCl $D_{N_\varrho} \cdot G_N$ molar	$1{,}2 \cdot 10^{-4}$	$1{,}2 \cdot 10^{-4}$	$1{,}2 \cdot 10^{-4}$	$1{,}2 \cdot 10^{-4}$

1% Meta-Oxybenzoesäureamid $G_{Ph} = D_{Ph_\varrho} \cdot G_{Ph}$	$3{,}6 \cdot 10^{-3}$	$1{,}8 \cdot 10^{-3}$	$9 \cdot 10^{-4}$
$^1/_{50}$ mol. Acridin-HCl G_N	$2 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-3}$	∞
Acridin-HCl $D_{N_\varrho} \cdot G_N$	$1{,}2 \cdot 10^{-4}$	$2{,}4 \cdot 10^{-4}$	∞

Aus der drittletzten Vertikalrubrik ersieht man, daß bei der kleinen Vorlage Konzentration von $G_{Ph} = 3{,}6 \cdot 10^{-3}$ von Meta-Oxybenzoe-

säureamid der Acridin-G_N-Wert von $2 \cdot 10^{-3}$ zur Kristallisation gerade ausreicht. Nach der Analogie der früheren Versuche sollte man also denken, daß bei viel höheren Phenolderivatvorlagen viel kleinere G_N-Werte genügen würden. Dies ist aber nicht der Fall. Auch bei den höchsten Vorlagen von Meta-Oxybenzoesäureamid ist der G_N-Wert von $2 \cdot 10^{-3}$ mol. Acridin zur kristallinen Ausfällung erforderlich. Dies spricht dafür, daß in dem Konzentrationsbereich des Meta-Oxybenzoesäureamids von $G_{Ph} = 5{,}8 \cdot 10^{-2}$ bis $G_{Ph} = 3{,}6 \cdot 10^{-3}$ das zugesetzte Acridin fast vollständig zur Bildung der Oxybenzoesäureamid-Acridinverbindung verbraucht wird, und daß erst dann Übersättigung an dieser Verbindung eintritt, wenn das zur Verfügung stehende G_N den Wert $2 \cdot 10^{-3}$ mol. erreicht. Ist also λ die molare Löslichkeit der Acridin-Meta-Oxysäureamidverbindung, und sind in einem Molekül dieser Verbindung n_N Moleküle Acridin vorhanden, so wird die Kristallisationsgrenze überschritten, wenn die Konzentration $n_N \cdot \lambda$ von Acridin gebunden ist. Da hier eine vollständig verlaufende Reaktion vorzuliegen scheint, beträgt also $n_N \cdot \lambda$ nahezu $2 \cdot 10^{-3}$ mol. Unter diesen Wert kann die Acridinkonzentration selbst bei höchster Vorlage von Meta-Oxybenzoesäureamid nicht sinken. Dafür daß bei den hohen Meta-Oxybenzoesäureamidvorlagen tatsächlich das Acridin fast vollständig zur Bildung dieser Verbindung verbraucht wird, spricht, daß die Acridinfluoreszenz bei den höheren Vorlagen fast völlig verschwindet.

Ganz ähnlich scheinen die Verhältnisse bei den anderen Oxybenzoesäureamiden zu liegen, da auch hier bei fallender Phenolvorlage zunächst der zur Kristallisation notwendige G_N-Wert konstant bleibt. Dies zeigen die beiden folgenden Zusammenstellungen:

1% Para-Oxybenzoesäureamid				
$G_{Ph} = D_{Ph_Q} \cdot G_{Ph}$	$2{,}9 \cdot 10^{-2}$	$1{,}4 \cdot 10^{-2}$	$7{,}2 \cdot 10^{-3}$	$3{,}6 \cdot 10^{-3}$
$^1/_{50}$ mol. Acridin-HCl G_N	$4 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-3}$	∞
Acridin-HCl $D_{N_Q} \cdot G_N$	$2{,}4 \cdot 10^{-4}$	$2{,}4 \cdot 10^{-4}$	$2{,}4 \cdot 10^{-4}$	∞

0,25% Salicylamid $G_{Ph} = D_{Ph_Q} \cdot G_{Ph}$	$1{,}3 \cdot 10^{-2}$	$7{,}2 \cdot 10^{-3}$	$3{,}6 \cdot 10^{-3}$
$^1/_{50}$ mol. Acridin-HCl G_N	$3 \cdot 10^{-3}$	$3 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-3}$
Acridin-HCl $D_{N_Q} \cdot G_N$	$1{,}8 \cdot 10^{-4}$	$1{,}8 \cdot 10^{-4}$	$2{,}4 \cdot 10^{-4}$

Demnach scheint beim Para-Oxybenzoesäureamid $n_N \cdot \lambda$ beinahe $4 \cdot 10^{-3}$ mol. zu betragen und beim Salicylsäureamid $n_N \cdot \lambda$ dem Wert von $3 \cdot 10^{-3}$ nahezukommen.

Ähnlich liegen die Verhältnisse bei den Monomethyläthern des para- und meta-Dioxyphenols. Auch hier verschwindet die Acridinfluoreszenz bei den höchsten Phenolderivatvorlagen und der Wert $n_N \cdot \lambda$ nähert sich wahrscheinlich dem G_N-Wert, der bei der höchsten Phenolderivatvorlage zur Kristallisation nötig ist.

2% Hydrochinonmonomethyläther $G_{Ph} = D_{Ph_Q} \cdot G_{Ph}$	$1{,}3 \cdot 10^{-1}$	$6{,}4 \cdot 10^{-2}$	$3{,}2 \cdot 10^{-2}$	$1{,}6 \cdot 10^{-2}$	$8 \cdot 10^{-3}$
$^1/_{50}$ mol. Acridin-HCl G_N	$2 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-3}$
Acridin-HCl $D_{N_Q} \cdot G_N$	$1{,}2 \cdot 10^{-4}$	$1{,}2 \cdot 10^{-4}$	$1{,}2 \cdot 10^{-4}$	$2{,}4 \cdot 10^{-4}$	$2{,}4 \cdot 10^{-4}$

0,5% Resorcinmonomethyläther $G_{Ph} = D_{Ph_Q} \cdot G_{Ph}$	$9{,}7 \cdot 10^{-2}$	$4{,}9 \cdot 10^{-2}$	$2{,}4 \cdot 10^{-2}$	$1{,}2 \cdot 10^{-2}$	$6 \cdot 10^{-3}$
$^1/_{50}$ mol. Acridin-HCl G_N	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-3}$	∞
Acridin-HCl $D_{Ph_Q} \cdot G_N$	$6 \cdot 10^{-5}$	$6 \cdot 10^{-5}$	$1{,}2 \cdot 10^{-4}$	$2{,}4 \cdot 10^{-4}$	∞

Den Kristallisationsgrenzen nach verläuft die im vorigen Abschnitt beschriebene Guajakolacridinreaktion nach dem Prinzip einer unvollständig verlaufenden Reaktion. (Im Gegensatz zu den anderen Monomethyläthern der Dioxyphenole.) Wir haben bei der Reaktion zwischen einem Molekül Acridin und einem Molekül Guajakol ein einfaches Löslichkeitsprodukt von etwa $6 \cdot 10^{-6}$. Nur insofern erinnert die Guajakolreaktion an die der anderen Phenoläther, als auch hier bei den hohen Guajakolvorlagen die Aridinfluoreszenz stark herabgesetzt wird.

Auch die Dioxyphenole geben eine ziemlich vollständig verlaufende Reaktion mit dem Acridin. Diese Reaktionen gehen bis zu so niederen Vorlagewerten G_{Ph}, daß wir in den folgenden Zusammenstellungen aus Raumersparnis eine Anzahl G_{Ph}-Werte weggelassen hatten, bei denen der G_N-Wert ebenso groß war wie bei dem nächst höheren und nächst niederen wiedergegebenen G_{Ph}-Wert.

0,5 mol. Resorcin $G_{Ph} = D_{Ph_Q} \cdot G_{Ph}$	$1 \cdot 10^{-1}$	$6{,}2 \cdot 10^{-3}$	$3{,}1 \cdot 10^{-3}$	$7{,}8 \cdot 10^{-4}$	$3{,}9 \cdot 10^{-4}$	$1{,}9 \cdot 10^{-4}$
Acridin-HCl G_N	$5 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$
Acridin-HCl $D_{N_Q} \cdot G_N$	$3 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-5}$	$6 \cdot 10^{-5}$	$6 \cdot 10^{-5}$	$1{,}2 \cdot 10^{-4}$	$1{,}2 \cdot 10^{-4}$

0,5 mol. Hydrochinon $G_{Ph} = D_{Ph_Q} \cdot G_{Ph}$	$1 \cdot 10^{-1}$	$3{,}1 \cdot 10^{-3}$	$1{,}6 \cdot 10^{-3}$	$7{,}8 \cdot 10^{-4}$
Acridin-HCl G_N	$2{,}5 \cdot 10^{-4}$	$2{,}5 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-4}$
Acridin-HCl $D_{N_Q} \cdot G_N$	$1{,}5 \cdot 10^{-5}$	$1{,}5 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-5}$

0,5 mol. Hydrochinon $G_{Ph} = D_{Ph_Q} \cdot G_{Ph}$	$3{,}9 \cdot 10^{-4}$	$1{,}9 \cdot 10^{-4}$	$9{,}8 \cdot 10^{-5}$	$4{,}9 \cdot 10^{-5}$
Acridin-HCl G_N	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-3}$
Acridin-HCl $D_{N_Q} \cdot G_N$	$6 \cdot 10^{-5}$	$6 \cdot 10^{-5}$	$1{,}2 \cdot 10^{-4}$	$2{,}4 \cdot 10^{-4}$

0,5 mol. Brenzkatechin $G_{Ph} = D_{Ph_Q} \cdot G_{Ph}$	$1 \cdot 10^{-1}$	$5 \cdot 10^{-2}$	$6{,}2 \cdot 10^{-3}$	$3{,}1 \cdot 10^{-3}$	$1{,}6 \cdot 10^{-3}$	$3{,}9 \cdot 10^{-4}$
Acridin-HCl G_N	$5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-3}$
Acridin-HCl $D_{N_Q} \cdot G_N$	$3 \cdot 10^{-5}$	$6 \cdot 10^{-5}$	$6 \cdot 10^{-5}$	$1{,}2 \cdot 10^{-4}$	$2{,}4 \cdot 10^{-4}$	$2{,}4 \cdot 10^{-4}$

In der Abb. 1 sind die Verhältnisse graphisch dargestellt. Da die Unzahl von Kurven den Überblick verwirren, haben wir die Knicke der unvollständig verlaufenden Reaktionskurven, die in der Durchschnittssteilheit 1 : 1 von rechts oben nach links unten verlaufen, weggelassen, um die Übersicht zu erleichtern. Während wir die unvollständig verlaufenden Reaktionen als gerade, nicht unterbrochene Kurven durchgezeichnet haben, wurden die vollständiger verlaufenden Reaktionskurven, die von links zunächst als horizontale Linien beginnen, punktiert gezeichnet. Dadurch ist ihr Verlauf leichter zu erkennen. Die $G_{Ph\,I}$-Senkrechten der nicht reagierenden Salicylsäureester sind, um das Bild nicht zu verwirren, nicht

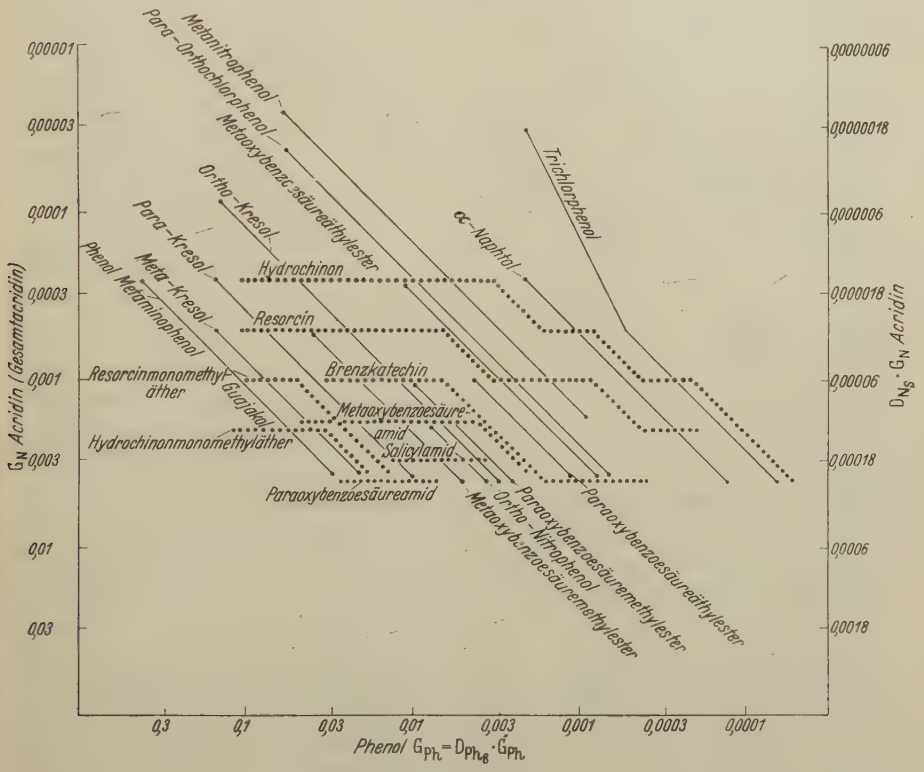


Abb. 1.

eingetragen. Der Fußkreis des Aethylium salicylicum würde ungefähr am rechten unteren Endpunkt der Para-Oxybenzoesäuremethylesterkurve liegen; es bedeutet dies, daß das Aethylium salicylicum schwächer wirksam ist als der genannte Methylester, demnach also viel schwächer wirkt als der Para- und Meta-Oxybenzoesäureäthylester. Der Fußkreis des Methylium salicylicum würde etwa am rechten unteren Kurvenende der Ortho-Nitrophenolkurve liegen. Demnach ist der Ortho-Oxybenzoesäuremethylester sicher schwächer als der Para-Oxybenzoesäuremethylester und vielleicht (aber nicht sicher) auch schwächer als der Meta-Oxybenzoesäuremethylester.

IV. Die sich ergebenden chemisch konstitutiven Gesetzmäßigkeiten und ihre pharmakologische Bedeutung.

A. Vergleich der Löslichkeitsprodukte und unvollständigen Reaktionen zwischen Acridin und den Phenolsubstitutionsprodukten mit den entsprechenden Daten kleinerer Pyridinderivate.

In der Tabelle 2 sind nicht nur die Löslichkeitsprodukte $a^1 \cdot b^1$ zwischen einem Molekül Phenolderivat und einem Molekül Pyridinderivat sondern auch die Löslichkeitsprodukte $a^2 \cdot b^1$ zwischen zwei Molekülen Phenolderivat und einem Molekül Pyridinderivat zusammengestellt. Dabei ist zu berücksichtigen, daß untereinander nur die Löslichkeitsprodukte mit dem gleichen Exponenten vergleichbar sind. Während bei den am meisten rechts stehenden, am schlechtesten löslichen Basen Chinolin und Acridin die Steilheit der Reaktionskurve im ganzen Reaktionsbereich der Form $a^1 \cdot b^1$ entspricht und beim Pyridin fast alle Kurven durch die Form $a^2 \cdot b^1$ beschrieben werden, nähert sich bei den Basen zwischen Pyridin und Chinolin die Kurvensteilheit bei den höchsten G_{Ph}-Werten der Reaktionsform $a^2 \cdot b^1$, bei den niedrigsten G_{Ph}-Werten der Form $a^1 \cdot b^1$. Wir haben daher die zugehörigen Werte $a^2 \cdot b^1$ aus dem Wertepaar $D_{Ph_0} \cdot G_{Ph} = a$ und $D_{N_0} \cdot G_N = b$ der höchsten Phenolvorlage berechnet; dagegen haben wir den Wert $a^1 \cdot b^1$ aus dem Wertepaar a und b der niedrigsten Phenolvorlagen entnommen. Dies bedeutet natürlich nur eine Annäherung; dort wo die Annäherung besonders grob ist, haben wir den berechneten Wert mit Klammern versehen. Bei den Aminopyridinen sind die Werte besonders ungenau, da die Kurven sehr kurz sind.

Die aufgezählten Basen sind vom 3-Aminopyridin bis zum β-Pikolin sehr gut löslich bzw. mit Wasser mischbar. Das β-Pikolin ist aber leichter aussalzbar als das α-Pikolin und das Pyridin. Die Wasserlöslichkeit der schwerer löslichen Basen ist bei den Basen angegeben. Z. B. 2% 3-Chlorpyridin bedeutet, daß dieses gerade zu 2% in Wasser löslich ist usw. In gleicher Weise ist die Wasserlöslichkeit der Phenolderivate vermerkt. Bei den Basen ist außerdem noch die reziproke Dissoziationskonstante k_r angegeben. Sie bedeutet die $[H^+]$, bei der die betreffende Base zur Hälfte in dissoziierter Form und zur Hälfte in undissoziierter Form vorliegt.

Die Reaktionsdaten der Dioxyphenole mit den verschiedenen Pyridinderivaten sind nicht wiedergegeben. Die entsprechenden Kurven verlaufen vom 3-Aminopyridin bis zum Kollidin einschließlich links und unter den Phenolkurven und liegen flacher als diese. Mit dem Chinolin und Acridin liefern die Dioxyphenole vollständiger verlaufende Reaktionen, für die die Form $a^{n\,Ph} \cdot b^{n\,N}$ nicht mehr gilt. Kristalline Reaktionsprodukte liefern mit allen Dioxyphenolen das Chinolin und das Acridin, von allen anderen hier aufgeführten Basen gibt nur das Hydrochinon mit den beiden Aminopyridinen, dem Chlorpyridin und dem α-Pikolinsäureäthylester, kristalline Reaktionsprodukte. — Alle übrigen Reaktionsprodukte mit den Dioxyphenolen stellen eine ölige Phase dar. Die Reaktionen mit den Oxybenzoesäureamiden sind in der Tabelle ebenfalls weggelassen. Das Acridin bildet mit diesem kristalline Produkte und eine vollständiger verlaufende Reaktion. Das Chinolin liefert nur mit dem 0,25%igen Salicylamid ein kristallines Produkt, dessen Löslichkeitsprodukt $a^1 \cdot b^1 = 4{,}5 \cdot 10^{-5}$ beträgt. Außer diesen Reaktionen liefern die Oxybenzoesäureamide mit keiner der Basen eine sichtbare Fällungsreaktion. — Die Untersuchung der schwer löslichen Methyl- und Äthylester der Ortho-Oxybenzoesäure ist in der Tabelle ebenfalls nicht wiedergegeben, da diese mit keiner der Basen sichtbare Fällungsreaktionen geben. — Findet sich in den Zeilen eines wiedergegebenen Phenolderivates sowohl unter dem Zeichen $a^2 \cdot b^1$ als auch unter dem

Zeichen $a^1 \cdot b^1$ einer Base ein leerer Raum, so bedeutet dies, daß das betreffende Phenolderivat mit dieser Base keine Reaktion gibt. Ein v in der betreffenden Rubrik kennzeichnet die Reaktion als vollständiger verlaufenden Bindungsvorgang.

Es ist auffallend, daß nur das Acridin mit sämtlichen Phenolderivaten kristalline Reaktionsprodukte liefert; das Chinolin liefert außer mit obengenannten Phenolderivaten nur mit dem Para- und Meta-Nitrophenol und mit dem α- und β-Naphthol kristalline Reaktionsprodukte. Außer den obengenannten kristallinen Reaktionsprodukten liefert nur das Para-Nitrophenol mit den beiden Aminopyridinen, dem Pyridin, dem 3-Chlorpyridin und dem β-Pikolin Kristalle. Das Kollidin reagiert nur mit dem Trichlorphenol kristallin. Sonst traten alle beobachteten Reaktionsprodukte als ölige Phase auf. Das kristalline 4-Aminopyridin, das 5% wasserlöslich ist, war zu stark basisch ($k_r = 2 \cdot 10^{-9}$), so daß wir es vorläufig von den Untersuchungen ausgeschlossen haben. Von allen in der Tabelle aufgezählten Basen selbst sind nur die Aminopyridine und das Acridin kristallin. Alle übrigen Basen sind Flüssigkeiten.

Nähere Daten über die Reaktionen von den Aminopyridinen und dem 3-Chlorpyridin sind in der Inaugural-Dissertation (Dr. phil.) Nöcker, Jena 1939, gegeben. Die Daten über die Methylpyridine finden sich in den Inaugural-Dissertationen Tschirpe, Kleuker und Schnicke bzw. in der Arbeit Bergstermann[2], S. 55. Die übrigen den Berechnungen der Tabelle zugrunde liegenden Daten sind von Labes[1, 3] genannt.

Bei der Betrachtung der Tabelle erkennen wir, daß die Löslichkeitsprodukte zwischen Pyridinderivat und Phenolderivat immer kleiner werden, je mehr das Pyridin bzw. Phenol mit hydrophoben Substituenten substituiert sind. Umgekehrt vergrößern hydrophile Substituenten in der Regel die Löslichkeitsprodukte, schwächen also die Fällungsreaktion *. Diese Hydrophobieregel, die sich fast bei allen Phenolderivat-Pyridinderivatverbindungen bewährte, die als ölige Phase ausfielen, gilt auch bei den Acridinphenolderivatlöslichkeitsprodukten, obwohl diese sämtlich kristallin ausfallen. Wenn wir von den später zu besprechenden sterischen Besonderheiten absehen, so verstärken die Substituenten sowohl am Pyridin als auch am Phenol nach folgender von links nach rechts fortschreitender Reihenfolge die Phenol-Basenreaktionen:

Carbamid, Amino, Hydroxyl, —, Methoxyläther, Methyl, Methylester, Chlor, Äthylester, Nitro, Trimethyl, zweiter Ring, Trichlor, dritter Ring.

Der Strich bedeutet dabei das unsubstituierte Phenol bzw. Pyridin; links vom Strich stehen die reaktionsabschwächenden, hydrophilen Gruppen; dabei hemmt die Carbamidgruppe die unspezifischen Reaktionen so stark, daß alle Reaktionen mit restvalenzarmen Substitutionsprodukten des anderen Partners unterdrückt werden. Das Zeichen „zweiter" Ring bedeutet beim Phenol den Übergang in Naphthol, beim Pyridin den Übergang in Chinolin (also jeweils das Hinzukommen von vier Kohlenstoffatomen). Das Zeichen dritter Ring bedeutet den Übergang von Pyridin zu Acridin. Vergleichen wir die Löslichkeitsprodukte $a^1 \cdot b^1$, so sehen wir, daß die Verkleinerung des Löslichkeitsproduktes bei einer Methylsubstitution das zwei- bis dreifache, bei Äthylestersubstitution das zehn- bis zwanzigfache, bei

* Auf die Ausnahmen dieser Regel, die dann eintreten, wenn restvalenzreiche Substituenten wie OH, $CONH_2$ usw. sich an beiden Partnern finden und zu spezifischen Reaktionen führen, soll erst später eingegangen werden.

Tabelle 2.

	3-Aminopyridin $k_r = 1 \cdot 10^{-6}$	2-Aminopyridin $k_r = 2 \cdot 10^{-7}$		Pyridin $k_r = 5 \cdot 10^{-6}$		2-Methylpyridin $k_r = 8 \cdot 10^{-7}$		2-Pyridincarbonsäureäthylester $k_r = 2 \cdot 10^{-3}$		3-Methylpyridin $k_r = 6 \cdot 10^{-7}$	
	$a^2 \cdot b^1$	$a^2 \cdot b^1$	$a^1 \cdot b^1$	$a^2 \cdot b^1$	$a^1 \cdot b^1$	$a^2 \cdot b^1$	$a^1 \cdot b^1$	$a^2 \cdot b^1$	$a^1 \cdot b^1$	$a^2 \cdot b^1$	$a^1 \cdot b^1$
3% Meta-Aminophenol											$4{,}4 \cdot 10^{-2}$
5,5% Phenol	$1{,}5 \cdot 10^{-2}$	$7{,}4 \cdot 10^{-3}$		$1{,}6 \cdot 10^{-3}$		$(2 \cdot 10^{-3})$	$1{,}5 \cdot 10^{-2}$	$1{,}3 \cdot 10^{-3}$	$(1 \cdot 10^{-2})$	$(1 \cdot 10^{-3})$	$8 \cdot 10^{-3}$
1,5% Guajakol		$1{,}5 \cdot 10^{-3}$		$3 \cdot 10^{-3}$		$(1 \cdot 10^{-3})$		$(1{,}4 \cdot 10^{-3})$	$(2 \cdot 10^{-2})$	$5 \cdot 10^{-4}$	
2% Hydrochinonmonomethyläther		$2 \cdot 10^{-3}$		$1{,}3 \cdot 10^{-3}$		$6 \cdot 10^{-4}$		$9 \cdot 10^{-4}$		$4{,}5 \cdot 10^{-4}$	$7 \cdot 10^{-3}$
1,5% Resorcinmonomethyläther		$7 \cdot 10^{-4}$		$5 \cdot 10^{-4}$		$1{,}7 \cdot 10^{-4}$		$4 \cdot 10^{-4}$	$6 \cdot 10^{-3}$	$1{,}2 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{-3}$
2% Ortho-Methylphenol	$9 \cdot 10^{-4}$	$8 \cdot 10^{-4}$		$3 \cdot 10^{-4}$		$2 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{-3}$	$8 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-3}$	$8 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-3}$
2% Meta-Methylphenol	$9 \cdot 10^{-4}$	$7{,}5 \cdot 10^{-4}$		$3 \cdot 10^{-4}$		$1{,}2 \cdot 10^{-4}$	$6 \cdot 10^{-3}$	$6 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-3}$	$7{,}5 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-3}$
2% Para-Methylphenol	$9 \cdot 10^{-4}$	$6 \cdot 10^{-4}$		$3 \cdot 10^{-4}$		$1{,}5 \cdot 10^{-4}$	$6 \cdot 10^{-3}$	$6 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-3}$	$7{,}5 \cdot 10^{-5}$	$4 \cdot 10^{-3}$
0,75% Meta-Oxybenzoesäuremethylester		$(1{,}8 \cdot 10^{-4})$	$6 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-4}$		$1{,}1 \cdot 10^{-4}$		$1{,}2 \cdot 10^{-4}$		$8 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-3}$
0,25% Para-Oxybenzoesäuremethylester											
1% Ortho-Chlorphenol	$3{,}7 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$		$1{,}5 \cdot 10^{-4}$		$6 \cdot 10^{-5}$	$2{,}4 \cdot 10^{-3}$	$3 \cdot 10^{-3}$		$2{,}5 \cdot 10^{-5}$	$1{,}7 \cdot 10^{-3}$
1% Meta-Chlorphenol	$4 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$		$1 \cdot 10^{-4}$		$3{,}6 \cdot 10^{-5}$	$1{,}7 \cdot 10^{-3}$	$1{,}6 \cdot 10^{-5}$	$7 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-3}$
1% Para-Chlorphenol	$3 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-4}$		$1 \cdot 10^{-4}$		$3{,}6 \cdot 10^{-5}$	$1{,}6 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-5}$		$1{,}5 \cdot 10^{-5}$	$1{,}2 \cdot 10^{-3}$
0,25% Meta-Oxybenzoesäureäthylester						$2{,}2 \cdot 10^{-5}$				$(1{,}6 \cdot 10^{-5})$	$1{,}2 \cdot 10^{-3}$
0,084% Para-Oxybenzoesäureäthylester											
1/8% Ortho-Nitrophenol											
1% Meta-Nitrophenol	$1{,}2 \cdot 10^{-4}$	$(1{,}2 \cdot 10^{-4})$		$1 \cdot 10^{-4}$		$3{,}2 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-5}$		$2{,}3 \cdot 10^{-5}$	$1{,}1 \cdot 10^{-3}$
1% Para-Nitrophenol	$(5 \cdot 10^{-4})$	$(5 \cdot 10^{-5})$			$2 \cdot 10^{-3}$	$3{,}4 \cdot 10^{-5}$	$(2{,}7 \cdot 10^{-3})$	$7 \cdot 10^{-5}$		$1{,}2 \cdot 10^{-5}$	$4{,}5 \cdot 10^{-4}$
0,038% α-Naphthol											

Tabelle 2 (Fortsetzung).

	2 % 3-Chlorpyridin $k_r = 5 \cdot 10^{-4}$		5,7 % 3-Pyridincarbonsäureäthylester $k_r = 3 \cdot 10^{-4}$		1 % 2, 4, 6-Trimethylpyridin $k_r = 3 \cdot 10^{-8}$		0,38 % Chinolin $k_r = 1 \cdot 10^{-5}$		0,0045 % Acridin $k_r = 1{,}3 \cdot 10^{-6}$
	$a^2 \cdot b^1$	$a^1 \cdot b^1$	$a^2 \cdot b^1$	$a^1 \cdot b^1$	$a^2 \cdot b^1$	$a^1 \cdot b^1$	$a^2 \cdot b^1$	$a^1 \cdot b^1$	$a^1 \cdot b^1$
3 % Meta-Aminophenol .									$6 \cdot 10^{-6}$
5,5 % Phenol		$8 \cdot 10^{-3}$	$6 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-3}$	$(6 \cdot 10^{-4})$	$1 \cdot 10^{-3}$		$9 \cdot 10^{-4}$	$6 \cdot 10^{-6}$
1,5 % Guajakol		$5 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-3}$		$1{,}6 \cdot 10^{-3}$		$6 \cdot 10^{-4}$	$6 \cdot 10^{-6}$
2 % Hydrochinonmonomethyläther	$(6 \cdot 10^{-4})$	$4{,}7 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-3}$	$1{,}4 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-3}$		$4 \cdot 10^{-4}$	*v*
1,5 % Resorcinmonomethyläther	$1{,}6 \cdot 10^{-4}$	$3 \cdot 10^{-3}$	$1{,}3 \cdot 10^{-4}$	$1{,}6 \cdot 10^{-3}$	$(3{,}6 \cdot 10^{-5})$	$5 \cdot 10^{-4}$		$3 \cdot 10^{-4}$	*v*
2 % Ortho-Methylphenol	$1 \cdot 10^{-4}$	$1{,}6 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-5}$	$1{,}4 \cdot 10^{-3}$	$3 \cdot 10^{-5}$	$6 \cdot 10^{-4}$	$1{,}5 \cdot 10^{-5}$	$3{,}3 \cdot 10^{-4}$	$7 \cdot 10^{-7}$
2 % Meta-Methylphenol	$1 \cdot 10^{-4}$	$1{,}4 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-5}$	$1{,}4 \cdot 10^{-3}$	$2{,}2 \cdot 10^{-5}$	$6 \cdot 10^{-4}$	$1{,}5 \cdot 10^{-5}$	$3{,}3 \cdot 10^{-4}$	$4{,}5 \cdot 10^{-6}$
2 % Para-Methylphenol .	$1 \cdot 10^{-4}$	$1{,}4 \cdot 10^{-3}$	$4 \cdot 10^{-5}$	$1{,}4 \cdot 10^{-3}$	$2{,}3 \cdot 10^{-5}$	$6 \cdot 10^{-4}$	$1{,}5 \cdot 10^{-5}$	$3{,}3 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-6}$
0,75 % Meta-Oxybenzoesäuremethylester		$2{,}2 \cdot 10^{-3}$	$3 \cdot 10^{-5}$	$1{,}2 \cdot 10^{-3}$	$1{,}3 \cdot 10^{-5}$	$4{,}5 \cdot 10^{-4}$		$1{,}8 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-6}$
0,25 % Para-Oxybenzoesäuremethylester									$6 \cdot 10^{-7}$
1 % Ortho-Chlorphenol . .		$1 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$7 \cdot 10^{-4}$	$1{,}5 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-4}$		$1 \cdot 10^{-4}$	$1{,}5 \cdot 10^{-7}$
1 % Meta-Chlorphenol . .	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$	$5{,}5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$4 \cdot 10^{-4}$	$8 \cdot 10^{-6}$	$2{,}5 \cdot 10^{-4}$		$7 \cdot 10^{-5}$	$3 \cdot 10^{-7}$
1 % Para-Chlorphenol . . .		$1 \cdot 10^{-3}$	$1{,}2 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$8 \cdot 10^{-6}$	$2{,}6 \cdot 10^{-4}$		$7 \cdot 10^{-5}$	$1{,}5 \cdot 10^{-7}$
0,25 % Meta-Oxybenzoesäureäthylester				$5 \cdot 10^{-4}$	$1{,}9 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-4}$		$7 \cdot 10^{-6}$	$2 \cdot 10^{-7}$
0,084 % Para-Oxybenzoesäureäthylester									$2{,}4 \cdot 10^{-7}$
$^1/_8$ % Ortho-Nitrophenol									$8 \cdot 10^{-7}$
1 % Meta-Nitrophenol .		$1 \cdot 10^{-3}$		$5 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$2{,}4 \cdot 10^{-4}$		$7 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-7}$
1 % Para-Nitrophenol . . .		$5 \cdot 10^{-4}$		$6 \cdot 10^{-4}$	$2{,}6 \cdot 10^{-6}$	$2{,}8 \cdot 10^{-4}$		$2{,}2 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-7}$
0,038 % α-Naphthol . . .								$8 \cdot 10^{-6}$	$3 \cdot 10^{-8}$

der Angliederung eines zweiten Ringes das 100fache (bzw. zwei Zehnerpotenzen) und bei Zutritt eines dritten Ringes das 10000fache (vier Zehnerpotenzen) beträgt, und zwar bei Substitutionen sowohl in den Phenolring als auch in den Pyridinring*.

Steht das betreffende Derivat im Löslichkeitsprodukt $a^{n_{Ph}} \cdot b^{n_N}$ nicht in der ersten Potenz sondern in der zweiten, so gilt oft für die Wirksamkeitsverstärkung nicht die erste Potenz sondern die zweite Potenz des dem Substituenten zukommenden Verkleinerungsfaktors. Vgl. Labes[1].

In der erwähnten Arbeit wurde dargetan, daß der Löslichkeitsverkleinerungsfaktor eines hydrophoben Substituenten auf die Wasserlöslichkeit des entstehenden Pyridin- oder Phenolsubstitutionsproduktes sehr oft in Beziehung mit der Wirkungsverstärkung der Phenol-Basenreaktion steht. Wir sehen dies auch in der Tabelle beim Vergleich der Löslichkeiten der Phenol- bzw. Pyridinderivate mit den Löslichkeitsprodukten $a^1 \cdot b^1$. Z. B. ist das Acridin etwa zwei Zehnerpotenzen weniger löslich als das Chinolin, und seine Löslichkeitsprodukte $a^1 \cdot b^1$ mit den verschiedenen Phenolderivaten sind etwa zwei Zehnerpotenzen kleiner als beim Chinolin. Auch beim Para-Nitrophenol, das mit Chinolin und Pyridin ein Löslichkeitsprodukt von der gleichen Form $a^1 \cdot b^1$ gibt, sieht man auch, daß das Chinolinlöslichkeitsprodukt etwa zwei Zehnerpotenzen kleiner ist als das Pyridinlöslichkeitsprodukt. Nun wird man einwenden, der Vergleich zwischen Chinolinlöslichkeit und Pyridinlöslichkeit treffe nicht zu. Denn das Pyridin ist nicht 100mal so löslich als das 0,38% lösliche Chinolin (d. h. nicht 38%), sondern es ist wassermischbar. Nun ist aber eine 38%ige Pyridinlösung schon geradezu ein Lipoidlösungsmittel, kann also weitere lipoide Substanz und weiteres Pyridin im Überschuß lösen. Infolgedessen hört bei diesen hohen Löslichkeiten die Geltung obiger Löslichkeitsregel auf, und aus denselben Gründen sehen wir auch nicht mehr die theoretisch erwarteten Unterschiede zwischen Pyridin und Methylpyridinlöslichkeit in reinem Wasser; nur unter Aussalzungsbedingungen kann man solche Unterschiede finden, vgl. Bergstermann[2]. Beim Vergleich zwischen dem schwerer löslichen Naphthol (0,038%) und dem Phenol (5,5%) kann man aber diese Regel sowohl bei der Löslichkeit als auch bei den Löslichkeitsprodukten wiedererkennen.

Die Kleinheit der Löslichkeitsprodukte zwischen stark hydrophoben Phenolen und Basen ist der Ausdruck einer Flucht vor dem Wasser in eine nichtwässerige Phase, die in diesem Falle auf chemischem Wege, also durch Bildung einer schwer löslichen, öligen oder kristallinen Verbindung erreicht wird. In anderen Fällen z. B. führt die zunehmende Belastung eines Stoffes mit hydrophoben Gruppen zu der erhöhten Neigung, von nichtwässerigen Phasen absorbiert zu werden, (z. B. zunehmende Lipoidlöslichkeit und Wirksamkeit der Narkotica mit der Zahl ihrer hydrophoben Gruppen), oder von nicht wässerigen Teilchen (Kohle und Kolloiden eiweißartiger oder lipoider Natur) adsorbiert zu werden. Vgl. die Beziehungen zwischen Eiweißbindung und pharmakologischer, desinfizierender und chemotherapeutischer Wirkung**. Auch im lebenden Organismus wird im allgemeinen ein

* Auffallenderweise wirken bei der Pyridinsubstitution Substituenten, die die Basizität abschwächen, nicht so stark. So beträgt der Verkleinerungsfaktor des Löslichkeitsproduktes bei Äthylestereinführung in das Pyridin nur etwa das vier- bis fünffache.

** Labes: Pflügers Archiv **186**, 98 (1921), sowie Labes mit Jansen und Schuster, ebenda **158**, 1 u. 29, und Labes mit Billmann: Biochem. Zeitschr. **274**, 75 (1934); ferner Schüller: Naunyn-Schmiedebergs Archiv. **147**, 64 (1932).

Körper desto stärker aus dem wässerigen Milieu sich flüchten und sich an oder in irgendwelche hydrophoben Zellelemente begeben, je stärker er mit hydrophoben Gruppen substituiert ist. Sind die betroffenen Zellelemente Träger wichtiger physiologischer Funktionen, so kann die Folge eine starke pharmakologische oder toxikologische Funktionsstörung darstellen. Daher kommt es sehr häufig vor, daß in homologen Reihen die pharmakologische Wirkung sehr oft mit dem Gehalt an hydrophoben Gruppen steigt.

Mit welcher Art von hydrophoben Zellbestandteilen die betreffenden Pharmaka in Reaktion treten und welcher Art die pharmakologische Wirkung ist, das hängt abgesehen von Permeabilitätsverhältnissen, vielen physikalischen Faktoren usw. auch von wichtigen chemischen Gruppen ab, die bestimmen, mit welchem chemisch geeigneten Funktionssubstrat der Organismus die betreffenden Pharmaka bei ihrer Flucht aus dem Wasser in Reaktion treten. Bei den vorliegenden Löslichkeitsprodukten handelt es sich darum, daß der eine Partner eine basische Gruppe trägt, welche den anderen Partner wegen seiner sauren phenolischen Gruppe bevorzugt. Aus solchen chemischen Gründen könnten sich z. B. Alkaloide im Organismus vorzugsweise an derartige hydrophobe Zellelemente flüchten, die phenolische Hydroxyle oder andere Körper mit sauren (elektropositiven) Wasserstoffgruppen bzw. elektropositiven Schwermetallvalenzen besitzen. Nun sind manche phenolischen und thiolischen Gruppen sowie Schwermetalle im lebenden Organismus teilweise Träger wichtiger Ferment- bzw. Co-Fermentfunktionen für die Gewebsatmung, und es besteht die Möglichkeit, daß manche alkaloidähnliche Stoffe bei ihrer Flucht aus dem wässerigen Milieu gerade solche chemischen Gruppierungen Co-fermentartiger Gewebssubstrate aufsuchen und deren Atmungsfunktion stören.

Wenn bei dem pharmakologischen Erregungseffekt mancher Alkaloide eine solche partielle Störung der Gewebsatmung eine Rolle spielt, so könnte unter Umständen Blausäure als Atmungsgift in kleinen Dosen die Erregungswirkung solcher alkaloidähnlicher Basen steigern. Dies war nach den Untersuchungen von Labes mit Wedell, Lippross, Soehring und Bergstermann[5] der Fall, wenn auch die bisherigen Beobachtungen noch nicht eindeutig diese Hypothese beweisen.

Während bei pharmakologischer Betätigung von Phenolderivaten bzw. alkaloidähnlicher Basen oft eine Wechselwirkung mit basischen bzw. sauren Bestandteilen des Tierkörpers von Bedeutung sein kann, die sich oft dann durch Substitution hydrophober Gruppen steigern läßt, können bei der Wirkung anderer Pharmaka wieder ganz andere chem. Gruppen bestimmen, an welcher Art Zellelemente sich die Pharmaka bei ihrer Flucht aus der wässerigen Phase begeben, so daß dann ganz andersartige pharmakologische Funktionsänderungen resultieren. Handelt es sich auch bei diesen Pharmaka um eine Flucht aus der wässerigen Phase,

[5] Naunyn-Schmiedebergs Arch. **185**, 125, 399, 512 (1937).

so kann auch hier wieder die Substitution hydrophober Elemente den betreffenden pharmakologischen Effekt steigern. So kann also bei Pharmaka der verschiedensten Art die Hydrophobieregel gültig sein. Sie kann aber auch dann, wenn bei der Wirkung dieses Pharmakons die Flucht aus der wässerigen Phase eine Rolle spielt, überdeckt werden, nicht nur durch Substituenten, die zu den später erwähnten spezifischen Additionsreaktionen führen können, sondern auch durch Substituenten, deren Effekt unspezifisch der Hydrophobieregel folgt.

Hier sind in vielen Fällen noch ganz andere Nebenwirkungen des Substituenten besonders auf die Verteilung und die Permeabilitätsverhältnisse im Tierkörper zu beachten, die unter Reagensglasbedingungen keine Rolle zu spielen brauchen. So wirkt z. B. in wässeriger Lösung das Trichlorphenol der Hydrophobieregel entsprechend stärker desinfizierend auf Bakterien als das Phenol. Im Tierkörper ist aber die Wirkungsverstärkung auf Bakterien viel kleiner als der Hydrophobieregel entspricht. Dies liegt daran, daß auch die Serumkolloide der Hydrophobieregel entsprechend (vgl. obige Arbeit Labes-Jansen, S. 704) stärker Trichlorphenol binden, so daß durch diese verstärkte Konkurrenzreaktion eiweißartiger Tierkörpersubstrate ein großer Teil des Trichlorphenols der Einwirkung auf die Bakterien entzogen wird. So können also Konkurrenzreaktionen die Gültigkeit der Hydrophobieregel bei Substitutionsprozessen überlagern. Weiter ist zu beachten, daß die Permeabilitätsverhältnisse der Zell- und Gewebsmembranen den Weg des Pharmakons zum pharmakologischen Zellsubstrat bald sperren, bald erleichtern können. So kann ein hydrophober Substituent zwar die Wirksamkeit eines Lokalanästheticums auf das betroffene Nervensubstrat verstärken, aber trotzdem die Brauchbarkeit eines Lokalanästheticums verschlechtern, wenn er es gleichzeitig soviel basischer macht, daß es als Ion schlechter an den Reaktionsort permeiert. Umgekehrt kann ein Substituent, wie z. B. eine Estergruppe, die lokalanästhetische Wirkung viel mehr verstärken als der Hydrophobieregel entspricht; denn ihre Substitution kann die Basizität so abschwächen, daß das betreffende Lokalanästheticum bei der Wasserstoffionenkonzentration der Gewebe, zu viel höherem Prozentsatz in Form der lipoidlöslichen, gut permeablen undissoziierten Base vorliegt, welche viel leichter den Reaktionswert erreicht, vgl. Labes[1]. Es ergibt sich aus diesen Beispielen, daß neben der Wirkung eines Substituenten auf die Affinität eines Pharmakons zu dem zu beeinflussenden Substrat noch zahlreiche andere Auswirkungsmöglichkeiten dieser Substitution zu beachten sind.

Aus obiger Tabelle sehen wir, daß verschiedene Substituenten die reziproke Dissoziationskonstante k_r der Pyridinderivate beeinflussen. Die Chlor- und Estersubstitution vergrößert k_r, verkleinert also die Basizität des Pyridinstickstoffs bzw. seine Neigung, saure Wasserstoffionen anzulagern. Solche säuernden Substituenten, die bei basischen Körpern die Basizität abschwächen, vergrößern bei Phenolen im allgemeinen deren Säuredissoziationskonstante, machen also die sauren Wasserstoffe aktiver. Man sollte deshalb denken, daß solche säuernden Substituenten in den Phenolderivaten die Aktionsfähigkeit des Phenols gegenüber Basen mehr verstärken als ihrem Hydrophobieeffekt entspricht, während sie als Substituenten am Pyridin dessen Basizität und Anlagerungsfähigkeit für saure Phenole abschwächen könnten.

So könnte man denken, daß diese säuernden Substituenten in Pyridinderivaten die Phenol-Basenreaktionen weniger begünstigen als ihrem hydrophoben Charakter entspricht. Dafür könnte sprechen, daß die Estergruppen als Pyridinsubstituenten die Phenol-Basenlöslichkeitsprodukte nicht so verkleinern, wie sie dies als Phenolsubstituenten tun. Auch scheint der Einfluß des säuernden Chlors als Pyridinsubstituent dem Einfluß des die Pyridinbasizität verstärkenden Methyls bei den Phenol-Basenreaktionen nicht so überlegen zu sein, wie dies bei der Chlorsubstitution gegenüber der Methylsubstitution beim Phenol der Fall ist. Im gleichen Sinne könnte sprechen, daß die Methylsubstitution in 3- (β-) Stellung zum Pyridinstickstoff, in der sie die Basizität mehr verstärkt als in 2- (α-) Stellung, auch zu kleineren Löslichkeitsprodukten führt, und daß auch die Äthylestergruppe in 3-Stellung die Phenol-Basenreaktion mehr begünstigt (kleineres Löslichkeitsprodukt) als in 2-Stellung, weil sie in 3-Stellung die Basizität weniger abschwächt als in 2-Stellung.

Es sind also gewisse Anhaltspunkte vorhanden, daß der Einfluß der Substituenten auf die Dissoziationsverhältnisse des Pyridins die Phenol-Basenreaktionen etwas modifiziert; die Ausschläge fallen aber beinahe in die Fehlergrenzen und treten gegenüber dem Hydrophobieeffekt jedenfalls ziemlich zurück. Der teilweise recht erhebliche Einfluß der Substituenten auf die Dissoziation der schwach basischen Pyridinderivate würde aber für dié Permeabilitätsverhältnisse im Tierkörper höchstens in sehr sauer reagierenden Organen eine Rolle spielen; denn in weniger sauer reagierenden Organen würden all diese schwachen Basen praktisch trotz der großen Unterschiede in ihren Dissoziationskonstanten völlig undissoziiert bleiben. Erst bei den stärker basischen Pyridinderivaten wie Kollidin und einigen Aminopyridinen könnten die Dissoziationsverhältnisse für die Permeabilität von größerer Bedeutung werden. (Die stärker basischen Aminopyridine, die also im Organismus zum viel größeren Teile als Kationen vorliegen, haben schon ganz andere Eigenschaften und zeigen teilweise lokalanästhetische Wirkungen.)

Die Ausschläge, die die verschiedene Stellung eines Substituenten im Pyridin- bzw. Phenolmolekül für die Phenol-Basenreaktionen zur Folge hat, sind meist nicht so bedeutend, um den Hydrophobieeffekt zu überdecken. Größere sterische Unterschiede finden wir aber bei der Nitro- und Estersubstitution der Phenolderivate zwischen Orthostellung einerseits und Para- sowie Metastellung andererseits. Labes[1] hatte schon betont, daß die Nitro- und Estergruppe in Orthostellung die Wasserlöslichkeit der Phenolderivate viel stärker herabsetzt als in Para- und Metastellung. Es sieht beinahe so aus, als ob die elektronegativen Sauerstoffatome der Nitro- und Estergruppe die Nebenvalenzen des elektropositiven Hydroxylwasserstoffs bei Orthostellung soweit absättigen, daß der wasserlöslichkeitssteigernde Einfluß des phenolischen Hydroxyls stark abgeschwächt wird. Bei den Acridinversuchen hat sich nun gezeigt, das die Nitro- und Estergruppe auch die Basenanlagerungsfähigkeit des in Orthostellung befindlichen phenolischen Hydroxylwasserstoffs erheblich abschwächt. Jedenfalls zeigt dies die Abbildung und die ergänzenden Bemerkungen (S. 699) für die Nitro- und Äthylestergruppe sicher, für die Methylestergruppe mit Wahrscheinlichkeit.

Bei der Methoxyläthergruppe sieht man zwar keine großen Unterschiede zwischen Einfluß von Ortho-, Meta- bzw. Parastellung des Methoxyls zum phenolischen Hydroxyl auf die Löslichkeit der Monomethyläther der Dioxyphenole, die

Orthostellung des Methoxyls schwächt aber auch hier im Vergleich zur Para- und noch mehr zur Metastellung die Wirksamkeit auf fast alle hier behandelten Basen ab. (Bei der Acridinabbildung liegt das rechte Ende der Resorcinmonomethylätherkurve rechts von der Hydrochinonmonomethylätherkurve, und auch deren rechtes Ende liegt wieder rechts von der Meta-Kresolkurve. Daraus ergibt sich die Überlegenheit nicht nur über das Meta-Kresol, sondern auch über das Guajakol, dessen Kurve mit der Phenolkurve zusammenfällt.) Bei den meisten Phenol-Basenreaktionen wirkt auch der elektronegative Chlorsubstituent in Orthostellung zum phenolischen Hydroxyl etwas reaktionsabschwächend im Vergleich zu seiner Meta- und Parastellung. Beim Acridin kommt dieser Unterschied allerdings nicht zur Geltung. Dagegen scheint bei den Acridinreaktionen der positivere Methylsubstituent in Orthostellung zum phenolischen Hydroxyl die Reaktionsbereitschaft deutlich gegenüber seiner Rolle in Meta- und Parastellung zu verstärken. Von sonstigen Stellungsunterschieden ist vielleicht noch zu bemerken, daß bei den Acridinreaktionen die Meta-Phenolsubstitution durch Chlor und Methyl weniger die Phenol-Basenreaktion zu verstärken scheint als die Parasubstitution. Vielleicht erklärt sich die daraus, daß sie unsymmetrische Metasubstitution schwerer zum Übergang in die kristalline Form des Reaktionsprodukts neigt als die symmetrische Parasubstitution.

B. Die vollständiger verlaufenden Acridin-Phenolderivatreaktionen und die Neigung restvalenzreicher Substituenten zu spezifischen Additionsreaktionen zwischen Phenolen und Basen.

Zunächst fällt hier die Rolle des restvalenzreichen, zweiten phenolischen Hydroxyls als Phenolsubstituent auf. Nach der Lage der rechten Kurvenenden ist das Hydrochinon dem Trichlorphenol, das Resorcin dem Naphthol (zweite Ringeinführung), das Brenzkatechin dem Para- und Ortho-Chlophenol erheblich überlegen. Bei den Chinolinreaktionen war die Überlegenheit des zweiten phenolischen Hydroxyls nicht ganz so groß: Das Hydrochinon war dem Meta-Oxybenzoesäuremethylester, das Brenzkatechin und Resorcin den Kresolen überlegen. Während in der Wirksamkeitsreihe der Substituenten (S. 701), die für die Reaktionen mit restvalenzarm substituierten Partnern gilt, das zweite phenolische Hydroxyl ganz links unter den hemmenden Substituenten steht, ist es bei den Reaktionen mit Chinolin und noch mehr mit Acridin sehr hydrophoben Substituenten überlegen. Die gleiche Überlegenheit des zweiten phenolischen Hydroxyls ergab sich (vgl. Labes[1]) bei der Reaktion von Brenzkatechin und Hydrochinon gegenüber dem Pikolinsäureamid. Hier hemmte die Carbamidgruppe am Pyridin die Reaktionen mit allen übrigen Phenolsubstitutionsprodukten mit Ausnahme des Nitrophenols. Das zweite phenolische Hydroxyl dagegen begünstigte in spezifischer Weise die Reaktionen gegenüber dieser carbamidhaltigen Pyridinderivatgruppierung. Wir haben diese spezifische Einstellung gegenüber bestimmten Partnergruppierungen darauf bezogen, daß das restvalenzreiche, zweite phenolische Hydroxyl mit der restvalenzreichen Carbamidgruppe am Pyridin sich durch direkte oder indirekte Absättigung der beiderseitigen Restvalenzen

im Sinne einer spezifischen Additionsreaktion auswirkt. Wenn man nun fragt, welche Restvalenzen seitens des Acridins und Chinolins den spezifischen Additionseffekt des zweiten phenolischen Hydroxyls hervorrufen, so liegt es nahe, an irgendwelche Doppelbindungen zu denken, durch die sich das dreiringige Acridin und das zweiringige Chinolin gegenüber dem Pyridin auszeichnet. Es mag dazukommen, daß die Dioxyphenole wegen ihrer zwei phenolischen Hydroxyle mehr Basenmoleküle binden können als die Phenolderivate mit nur einem Hydroxyl. Aber auch diese Deutung erklärt nicht den Unterschied zwischen der starken Dioxyphenolwirksamkeit auf Acridin und Chinolin gegenüber der geringen Wirksamkeit bei den anderen schwerer löslichen Pyridinderivaten.

Weiter fällt die Rolle der restvalenzreichen Carbamidgruppe als Phenolsubstituent (d. h. in den Oxybenzoesäureamiden) auf. Gegenüber den restvalenzarm substituierten Pyridinderivaten hemmte die Carbamidgruppe als Phenolsubstituent die Phenol-Basenreaktionen völlig, gehört also in der Wirkungsreihe (S. 701) noch links vom phenolischen Hydroxyl. Dem Chinolin gegenüber zeigte sich das Ortho-Oxybenzoesäureamid schon recht stark wirksam, so daß die Carbamidgruppe in Orthostellung bereits den Chlorsubstituenten überlegen war. Dem Acridin gegenüber vollends sind alle drei Oxybenzoesäureamide wirksam geworden. Dabei ist die Carbamidgruppe in Orthostellung dem Ortho-Nitrophenol, in Metastellung dem Para-Oxybenzoesäuremethylester und in Parastellung dem Para-Kresol überlegen (vgl. die rechten Kurvenenden).

Wir sehen also beim Carbamid und Hydroxyl, daß solche restvalenzreichen Gruppen sehr spezifische, sterische Gruppierungen restvalenzreicher Elemente des anderen Partners elektiv bevorzugen können, während sie andere weniger spezifische Additionsreaktionen geradezu unterdrücken. Die Beherrschung solcher spezifischen Additionsgesetze ist ein höchst verlockendes Ziel; denn in vielen Fällen ist es erstrebenswert, durch Substitution die Affinität eines Pharmakons zu dem pharmakologischen Funktionssubstrat so spezifisch zu steigern und gleichzeitig die Affinität zu anderen weniger wichtigen Substraten, die das Pharmakon abfangen können (vgl. S. 706), zu vermindern; zu solchen Zwecken können gerade hydrophile, aber restvalenzreiche Substituenten bisweilen sehr geeignet sein.

Jedenfalls erscheint die Carbamid- und Hydroxylgruppe besonders wählerisch. Hat der Reaktionspartner restvalenzreiche Gruppen in geeigneter Stellung, so sättigen Carbamid und Hydroxyl ihre Restvalenzen an diesen ab. Besitzt der Partner keine solchen geeigneten Restvalenzen, so sättigen sich Carbamid und Hydroxyl an den Restvalenzen des Wassers ab und erhöhen die Löslichkeit des Reaktionsproduktes derart, daß die Fällungsreaktion entweder abgeschwächt oder völlig gehemmt wird.

Bei der Nitrogruppe als Phenolsubstituent haben wir eine besonders ausgesprochen spezifische Betätigung ihrer Restvalenzen vorwiegend

gegenüber der Carbamidgruppe des α- und β-Pyridinkarbonsäureamids beobachtet.

Zusammenfassung.

Die restvalenzarmen Phenolsubstituenten verstärken die Phenol-Basenfällungsreaktionen der Phenolderivate mit dem Acridin im wesentlichen nach der gleichen unspezifischen Wirksamkeitsreihenfolge ihres Hydrophobiegrades (S. 701), wie dies beim Chinolin und den basischen Pyridinsubstitutionsprodukten mit Amino-, Methyl-, Chlor- und Estergruppen der Fall ist. Nur sind die Löslichkeitsprodukte beim Acridin entsprechend seinem größeren Gehalt an hydrophoben Gruppen je um etwa zwei Zehnerpotenzen kleiner als beim Chinolin, und entsprechend noch viel kleiner als bei den Pyridinderivaten mit noch kleinerem Gehalt an hydrophoben Gruppen; denn auch bei der Substitution im Pyridin verstärken die Substituenten die Phenol-Basenreaktion entsprechend der Hydrophobieregel. Die bei diesen unspezifisch verlaufenden Phenol-Basenreaktionen beobachteten Substitutionsregeln gelten sehr oft auch bei Wirksamkeitsreihen ganz anders gebauter pharmakologischer Gruppen im Tierkörper, können aber, wie an Beispielen gezeigt wird, häufig durch verschiedene andere Folgen der Substitution auf die Verteilung im Tierkörper überlagert werden.

Eine besondere Ausnahmestellung bei diesen Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und der Fähigkeit zu Phenol-Basenadditionsreaktionen aber nehmen die besonders restvalenzreichen Substituenten wie das Carbamid und das Hydroxyl ein. Während diese beiden Gruppen im Phenol substituiert die Phenolreaktionen mit allen restvalenzarmen Pyridinderivaten abschwächen oder völlig unterdrücken, fördern sie die Bindung an das Chinolin und noch mehr an das Acridin und sind in dieser Hinsicht den wirksamsten hydrophoben Gruppen überlegen. Derartige restvalenzreichen Substituenten können, wie sich aus dem Vergleich mit den früheren Untersuchungsergebnissen ergibt, nicht nur bei Substitutionen am Phenolmolekül sondern auch am Basenmolekül zu ganz spezifischen Additionsreaktionen führen, wenn der andere Partner ebenfalls reich an Restvalenzen bestimmter Gruppierung ist. Die nähere Erforschung derartiger spezifisch sich auswirkender Funktionen ist nicht nur aus chemischen sondern besonders aus pharmakologischen Gründen erstrebenswert.

Aus dem Pharmakologischen Institut in Berlin und der Zoologischen Station (Aquarium) in Neapel.

Der Stoffwechsel des geschädigten Gewebes. IV*.

Von

Norbert Brock, Hermann Druckrey und **Hans Herken.**

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 14. Oktober 1939.)

1.

In früheren Untersuchungen[1] haben wir festgestellt, daß die verschiedenartigsten „schädigenden" Eingriffe an Geweben und Zellen eine vorübergehende, aber meist mehrere 100% betragende Atmungssteigerung verursachen. Nach dieser „Reaktion" stellte sich der Stoffwechsel gewöhnlich wieder auf die alte Höhe ein, so daß während des ganzen Versuchs im allgemeinen gar keine Atmungshemmung in Erscheinung trat, obwohl eine der Höhe der Stoffwechselsteigerung entsprechende Zellschädigung meist morphologisch nachweisbar war.

Eine Hemmung der Atmung fanden wir auch nach Anwendung hoher Dosen, die am Seeigelei z. B. schon eine weitgehende Cytolyse (innerhalb der Versuchszeit) bewirken, nur recht selten. Die Atmung kann also sogar das Leben überdauern, ohne vermindert zu sein. Aus diesem Grunde sind wir der Ansicht, daß zwischen Zellschädigung und Atmungshemmung durchaus keine gesetzmäßige Beziehung besteht, wie sie oft ohne weiteres unterstellt wird. Es kann also auch die Hemmung der Atmung nicht als „Test" für die Zellschädigung dienen. Eher scheint uns die von uns beschriebene Stoffwechselsteigerung zum Nachweis der eingetretenen Schädigung geeignet zu sein. Wir haben ein umfangreiches Material dafür beibringen können, daß sie mit größter Regelmäßigkeit nach schädigenden Eingriffen zu beobachten ist, und daß diese „Stoffwechselreaktion" auf eine „Schädigung" in der belebten Welt weit verbreitet ist. Jedenfalls fanden wir sie bei Warmblütergeweben der verschiedensten Art grundsätzlich genau so wie z. B. bei Seeigeleiern[1]. Sie ist zudem eine recht empfindliche Reaktion, denn sie wird schon durch geringe Dosen, die noch keine morphologisch nachweisbare Schädigung verursachen, ausgelöst, so daß der Untersucher in solchen Fällen nicht im Zweifel zu sein braucht, ob das untersuchte Zellmaterial überhaupt noch lebt, wozu er bei Verwendung hoher Dosen, die vielleicht die Atmung hemmen, allen Anlaß hätte.

* Die Untersuchungen wurden mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft im Sommer 1938 durchgeführt.

[1] Druckrey, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **180**, 231 (1936); N. Brock, H. Druckrey u. H. Herken: Ebenda **188**, 436, 451 (1938).

Wir haben weiter im Verlauf der Arbeiten gelernt, daß es unmöglich ist, aus der Höhe der Atmung ohne weiteres auf die Lebenstüchtigkeit der Zellen oder Gewebe zu schließen[1a]. Wie einerseits eine erhöhte Atmung in Wahrheit Ausdruck einer „Schädigung" sein kann, kann andererseits gerade eine relativ niedrige Atmung das besonders lebensfähige Gewebe kennzeichnen. Ferner können beträchtliche Störungen der Funktionsfähigkeit eines Gewebes, wie wir an anderen Stellen[2,3] zeigten, ohne Änderung der Atmungsgröße einhergehen. So regellos indessen diese Verhältnisse zunächst zu liegen scheinen, war es doch bereits möglich, in ihnen einige Gesetzmäßigkeiten zu erkennen, die wir mit gutem Nutzen z. B. beim Studium des feineren organischen[2] (Glucose) und anorganischen[3] (Kalium) Stoffaustausches bei Erregungsvorgängen anwendeten.

Da wir der Ansicht sind, daß die Messung des Zell- und Gewebsstoffwechsels für die Klärung vieler pharmakologischer und physiologischer Probleme als Methode sehr nützlich sein kann, zumal sie quantitative Ergebnisse liefert und höchst empfindlich ist, haben wir uns weiter bemüht, in die Gesetzmäßigkeiten des Atmungsstoffwechsels einzudringen. Und zwar beschäftigten wir uns mit der Wirkung ganz allgemein „schädigender" Stoffe auf die Atmung, weil wir es für richtig halten, zunächst über unspezifische Wirkungen einige Klarheit zu gewinnen, ehe wir zu tief in spezielle Probleme eindringen.

Dabei benutzten wir das Seeigelei (Sphaerechinus granularis) als Versuchsobjekt, weil wir es gut kennen, und weil es so einfach ist, daß die Gefahr des Irrtums erfreulich geringer ist als bei der Untersuchung komplizierter Warmblütergewebe. Der Atmungsstoffwechsel wurde meist nach der sogenannten „direkten" Methode (Warburg[4]) in derselben Weise gemessen, wie wir es bereits an anderer Stelle ausführlich geschildert haben[1]. Bei diesen Versuchen benutzten wir später zum Vergleich auch die „indirekte" Methode, bei der das entstehende CO_2 nicht mittels Kalilauge absorbiert wird, sondern der Verbrauch von Sauerstoff und die Gesamtbildung von CO_2 auf Grund der verschiedenen Löslichkeit von O_2 und CO_2 in Wasser aus der Differenz der Druckänderung in zwei parallel untersuchten Ansätzen mit gleichen Zell- aber verschiedenen Mengen Flüssigkeit gleichzeitig bestimmt wird. Da der respiratorische Quotient maximal 1 betragen kann, wurde ein etwaiger Überschuß der CO_2-Bildung über den Sauerstoffverbrauch auf die Entstehung „fixer Säuren" (Warburg[4]) im Stoffwechsel bezogen, die aus dem Bicarbonat des Meerwassers „zusätzlich" CO_2 austreiben („Extrakohlensäure", in den Kurven: schraffiertes Feld). Um welche Säure es sich dabei handelt, lassen wir absichtlich zunächst offen.

[1a] Siehe auch Meier, R.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **122**, 129 (1927). — [2] Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Biochem. Z. **300**, 1 (1938). — [3] Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Ebenda **302**, 393 (1939). — [4] Warburg, O.: Der Stoffwechsel der Tumoren. Berlin 1926.

2.

In den vorangegangenen Untersuchungen [1] hatten wir beobachtet, daß der Stoffwechsel nach einem durch „Schädigung" ausgelösten starken Anstieg sich meist wieder auf die alte Höhe einstellt. Wurde nun die „Schädigung" wiederholt, so erfolgte kein Anstieg mehr, sondern die Atmung sank oft katastrophal ab (siehe z. B. Abb. 2 und 9). Die Zellen befanden sich also trotz quantitativ normaler Atmung nach der ersten „Schädigung" bereits in einem veränderten und zwar „geschädigten" Zustand („Allobiose") [5]. Daraus ergab sich ferner, daß auch der vorangegangene Atmungsanstieg bereits als Ausdruck einer eingetretenen Schädigung gewertet werden muß; dies um so mehr, als er auf eine gleichzeitige Steigerung der Permeabilität zurückgeführt werden konnte. Dies Ergebnis war

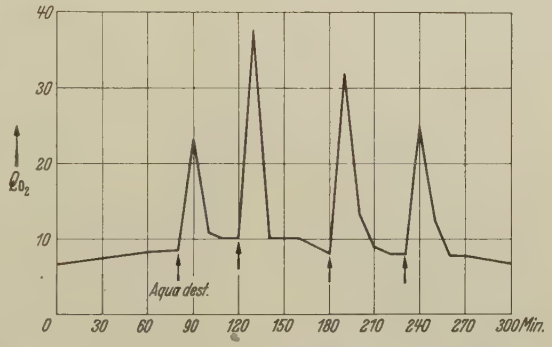


Abb. 1. Wirkung wiederholter schädigender Eingriffe auf die Atmung von befruchteten Seeigeleiern.

Durch wiederholte Einwirkung geringgradiger „Schädigungen", z. B. durch „Hypotonie" (bei den Pfeilen je 0,5 ccm dest. Wasser zu 3 ccm Zellsuspension in Meerwasser), läßt sich stets wieder ein Anstieg der Atmung auslösen. Danach kehrt der Stoffwechsel zur normalen Höhe zurück.

für die Beurteilung des von Arndt und Schulz [6] aufgestellten „Gesetzes" von Interesse.

Später stellten wir dann fest [7], daß eine physiologische Erregung praktisch die gleiche Wirkung auf die Atmung hat, wie eine „Schädigung", so daß enge Beziehungen zwischen der Wirkung eines physiologischen und unphysiologischen Reizes wahrscheinlich wurden, wofür wir auch weitere Argumente beibrachten. Ein Unterschied bestand jedoch darin, daß eine Wiederholung des physiologischen Reizes stets wieder zu einem Stoffwechselanstieg führte, eine wiederholte „Schädigung" dagegen nicht [1].

Es lag nun nahe, die Ursache für diesen Unterschied im Quantitativen zu suchen, derart, daß er um so größer wäre, je stärker die „Schädigung" war und daß die Wirkung relativ geringer „unphysiologischer" Reize der eines physiologischen Reizes am meisten entsprechen müßte. Dann wäre der seinerzeit beobachtete [1] Stoffwechselabfall nach der „Zweitschädigung" darauf zurückzuführen, daß die damals gewählte erste und zweite Dosis zu hoch war, und es müßte möglich sein, durch geringgradige

[5] Heubner, W.: Ber. I. Intern. Kongr. Ther. Union, Bern 1937. — [6] Schulz, H.: Rud. Arndt und das biol. Grundgesetz. Greifswald 1918; Brock, N.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **190**, 191 (1938). — [7] Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Ebenda **191**, 687 (1939).

„Schädigungen" auch bei wiederholter Anwendung stets wieder einen Stoffwechselanstieg auszulösen. Das war stets der Fall. Im Versuch, der in Abb. 1 wiedergegeben ist, „schädigten" wir die Eier viermal hintereinander durch Einkippen von destilliertem Wasser aus einem Ansatzgefäß (Hypotonie). Jedesmal stieg die Atmung in der charakteristischen Weise vorübergehend um 200--400 % an. Dasselbe Ergebnis erhielten wir auch nach anderen Arten der Schädigung (z. B. durch Säuren, Laugen, Emetin, Cephaelin, Veratrin u. a.), sofern die Schädigung ein bestimmtes Maß nicht überschritt. Wie sehr das Quantitative diese Verhältnisse beherrscht, ergab sich auch in Versuchen, in denen die Dosis bei der ersten

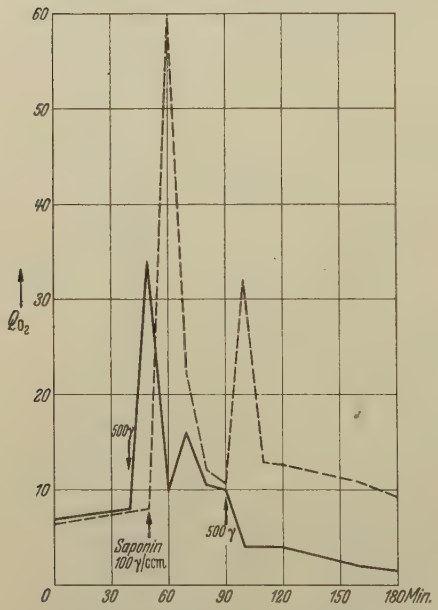


Abb. 2. Wie Abb. 1. Nach einer vorangegangenen stärkeren „Schädigung" (100 bzw. 500 γ ccm Saponin, Endkonzentration) führt ein erneuter „schädigender" Eingriff (500 γ/cm Saponin) zu einem verminderten Anstieg oder sogar zu einem sofortigen Abfall der Atmung. Schon die Höhe des ersten Atmungsanstiegs ist nach 500 γ Saponin geringer als nach 100 γ (vgl. Abb. 7).

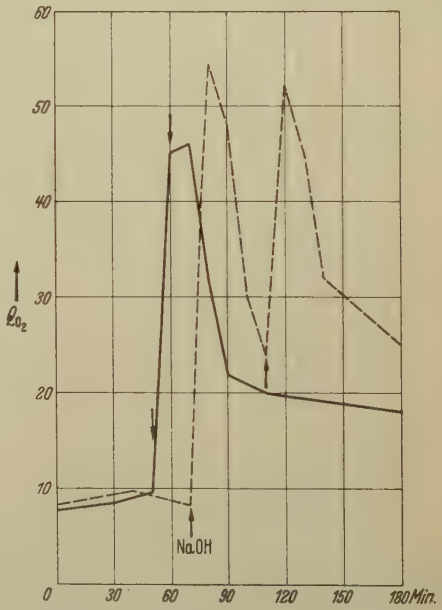


Abb. 3. Wie Abb. 1. Durch eine wiederholte Applikation einer „schädigenden" Substanz (bei den Pfeilen: 0,1 ccm n/5 NaOH auf 3 ccm Zellsuspension) läßt sich erst nach Abklingen der ersten Wirkung ein erneuter Atmungsanstieg auslösen.

Schädigung variiert wurde. War sie klein, so verursachte eine bestimmte „zweite" Schädigung noch einen sehr kräftigen Anstieg der Atmung, war sie höher, einen entsprechend geringeren, bis nach hohen Dosen überhaupt kein Anstieg mehr auftrat, sondern ein Abfall (Abb. 2), obwohl die Atmung in allen Fällen nach der ersten Schädigung wieder auf der normalen Höhe lag.

3.

Die Beobachtung, daß wiederholte „Schädigungen" stets wieder einen Stoffwechselanstieg auslösen können, macht es wahrscheinlich, daß es sich hier um eine echte „Reaktion" der lebenden Zelle auf einen unphysiologischen „Reiz" handelt. Da aber andererseits, wie wir gesehen haben, die Atmungssteigerung als Ausdruck der eingetretenen Schädigung gewertet werden muß, müßten sich die Zellen nach jeder Schädigung wieder erholt haben. Um festzustellen, innerhalb welcher Zeit die Erholung erfolgt, haben wir Versuche angestellt, in denen wir die Schädigungen verschieden dicht aufeinander folgen ließen. Dabei ergab sich, daß die zweite Dosis wirkungslos war, wenn sie auf der Höhe des Atmungsanstiegs, der der ersten folgte, appliziert wurde; erfolgte die Applikation dagegen erst nach dem Wiederabsinken der Atmung, so bewirkte sie einen erneuten Anstieg (Abb. 3).

Dies Ergebnis zeigt eine interessante Übereinstimmung mit früheren Beobachtungen. In Untersuchungen über die Vorgänge bei der Befruchtung des Seeigeleies hatten wir gefunden, daß eine „Schädigung" erst dann den charakteristischen Stoffwechselanstieg bewirkt, wenn die erste Steigerung der Atmung nach der Befruchtung wieder abgeklungen ist[1]. Aus diesen Befunden geht hervor, daß nach der „Reaktion" auf die Schädigung eine Erholung eintritt, die sogar praktisch vollständig sein kann, wenn der vorangegangene Reiz entweder physiologisch oder, falls unphysiologisch, genügend schwach gewesen ist, und zwar auch dann, wenn die schädigende Substanz weiter mit den Zellen in Kontakt bleibt. Der Eintritt der Erholung erfordert indessen einige Zeit. Wird die „Reizung" vor Ablauf dieser Zeit wiederholt, so erweisen sich die Zellen als „refraktär".

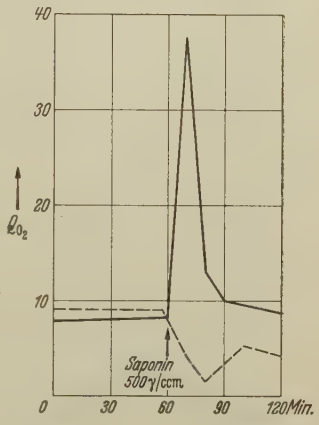


Abb. 4. Wie Abb. 1. Wirkung eines bestimmten „schädigenden" Eingriffs (500 γ/ccm Saponin, Endkonzentration) auf die Atmung von Seeigeleiern, die 1 Stunde lang mit einer hypertonischen Salzlösung (2 ccm 25 %ige NaCl auf 15 ccm Meerwasser) vorbehandelt waren. Durchgezogene Linie: Eier in normales Meerwasser übertragen; gestrichelte Linie: Eier im hypertonischen Meerwasser belassen.

Im Anschluß daran haben wir untersucht, ob auch nach einer schwereren Schädigung doch noch eine erneute „Stoffwechselreaktion" auslösbar ist, wenn der schädigende Stoff nach einiger Zeit wieder ausgewaschen wurde. Ein Beispiel eines solchen Versuchs gibt die Abb. 4. Seeigeleier wurden auf die Dauer von 1 Stunde in eine hypertonische Lösung übertragen und dadurch schwer geschädigt. Nach 1 Stunde wurden sie in Meerwasser zurückgebracht und hier untersucht. Eine Kontrolle verblieb dagegen in der hypertonischen Lösung und wurde ebenfalls nach 1 Stunde untersucht. Trotzdem war die Atmung in beiden Fällen gleich hoch. Nun wurden beide

Ansätze durch eine hohe Dosis Saponin geschädigt. Die in hypertonischer Lösung verbliebenen Eier zeigten einen Abfall der Atmung, während die in normales Meerwasser übertragene Portion mit einem kräftigen Anstieg der Atmung reagierte. Hier ist also ebenfalls trotz der schweren Schädigung nach Auswaschen des schädigenden Agens eine Erholung eingetreten.

Die Untersuchung, wie Seeigeleier unter sonst unbekannten Umständen auf die Schädigung reagieren, ist nach diesen Ergebnissen ein brauchbares und methodisch wichtiges Kriterium für den Zustand der Zellen, während aus der absoluten Höhe der Atmung keine Schlüsse dieser Art gezogen werden können.

4.

Bei diesen Versuchen, Zellen durch die Einwirkung verschiedener Substanzen zu „schädigen", benutzten wir aus naheliegenden Gründen in erster Linie solche Substanzen, von denen wir aus früheren Untersuchungen[8] wußten, daß sie die Entwicklung der befruchteten Eier stark hemmen, also „schädigen". Während viele dieser Stoffe (Saponin, Emetin, Cephaelin, Pepton, Laugen u. a.) auch eine Atmungssteigerung auslösten, erwiesen sich zu unserer Überraschung gerade die Substanzen, die die stärkste „schädigende" Wirkung auf die Zellteilung hatten, im Stoffwechselversuch als völlig wirkungslos, nämlich Colchicin, Cholestenonsulfosäure und Coffein (Abb. 5 u. 6). Andere Stoffe dagegen, die auf die Atmung eine starke Wirkung hatten, beeinflußten die Zellteilung weit weniger oder gar nicht (z. B. Veratrin). Dies verschiedene Angreifen „schädigender" Substanzen einmal an der Zellteilung und damit vorwiegend am Zellkern — und zum andern am Stoffwechsel — und damit vorwiegend am Cytoplasma — hat uns an anderer Stelle beschäftigt[9].

Im Anschluß daran interessierte uns die Frage, wie Seeigeleier, die mit einer nur die Zellteilung schädigenden Substanz vorbehandelt waren, auf ein stoffwechselwirksames Agens (als „Zweit-Schädigung") reagieren. Dies geschah, um festzustellen, ob eine vielleicht spezifische Schädigung der Funktion des Zellkerns auch die „Reaktionsfähigkeit" des Stoffwechsels (Cytoplasma) ändert.

Als erstes Beispiel wählten wir die Vorbehandlung mit Colchicin. Diese Substanz verhindert in einer Konzentration von 10^{-6} jede Teilung der Eier[8]. Die 500fache Dosis, nämlich 500 γ/ccm, hatte dagegen auf die Atmung gar keine Wirkung. Nun haben wir auf Eier, die mit einer solchen Dosis Colchicin vorbehandelt waren, eine stoffwechselwirksame „Schädigung" einwirken lassen, und zwar Saponin. Wie die Abb. 5 zeigt, hat die Vorbehandlung mit einem „Kerngift" (Colchicin) die Reaktion der Atmung auf den Saponinzusatz gar nicht beeinflußt; es trat derselbe Anstieg ein wie bei unvorbehandelten Eiern. Dies Ergebnis stützt unsere Auffassung, daß das Colchicin ein spezifisches „Kerngift" ist[9].

[8] Druckrey, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 196 (1938). — [9] Brock, N., H. Druckrey u. H. Herken: Ebenda **193**, 679 (1939).

Dieselbe Versuchsanordnung benutzten wir dann bei der entsprechenden Untersuchung der Cholestenonsulfosäure (Natriumsalz). Diese Substanz ist auf die Zellteilung ebenso wirksam wie Colchicin; auf die Atmung von Seeigeleiern blieb sie dagegen ohne Wirkung (Abb. 5).

Hinsichtlich der morphologisch feststellbaren Wirkung besteht aber zwischen Colchicin und Cholestenonsulfosäure ein wesentlicher Unterschied. Cholestenonsulfosäure führte im Gegensatz zum Colchicin bei Anwendung einer hohen Dosis in kurzer Zeit zur Cytolyse der Eier, wie es bei der starken Oberflächenaktivität dieser Substanz zu erwarten war. Interessanterweise blieb die Atmung auch der mit einer hohen Cholestenonsulfosäuredosis (500 γ ccm) behandelten Eier auf der normalen Höhe (Abb. 5, Punkt-Strich-Kurve), obwohl inzwischen Cytolyse eintrat, die Eier also gar nicht

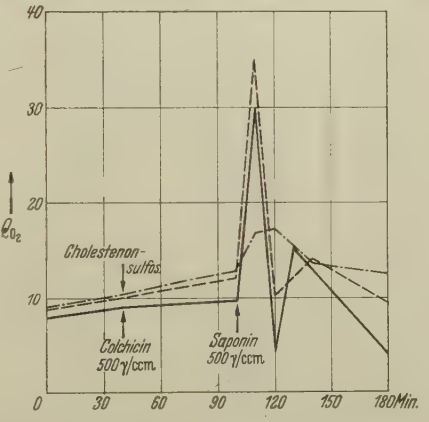


Abb. 5. Colchicin, das bei befruchteten Seeigeleiern die Zellteilung vollständig hemmt, hat auch in sehr hoher Dosis (500 γ/ccm) keine Wirkung auf die Höhe der Atmung (durchgezogene Kurve). Saponinzusatz bewirkt auch bei den mit Colchicin vorbehandelten Eiern den charakteristischen Atmungsanstieg. — Cholestenonsulfosäure, die ebenfalls die Zellteilung vollkommen hemmt, beeinflußt die Höhe der Atmung weder bei Applikation von 100 noch von 500 γ/ccm nicht, obwohl die letztgenannte Dosis zur vollständigen Cytolyse der Eier führt. In diesem Falle löst der Zusatz von Saponin keinen Atmungsanstieg mehr aus. Gestrichelte Kurve: Vorbehandlung mit 100 γ/ccm Cholestenonsulfosäure; Punkt-Strich-Kurve: Vorbehandlung mit 500 γ/ccm Cholestenonsulfosäure.

mehr „lebten". Daß die Atmung selbst nach der Cytolyse noch weiterverlaufen, ja sogar gesteigert sein kann, hat Warburg[10] bereits nachgewiesen, allerdings nur für unbefruchtete Seeigeleier, die er durch hypotonische Lösungen oder scharfes Zentrifugieren zerstörte. Bei befruchteten Eiern führte die gleiche Behandlung dagegen stets zu einem Abfall der Atmung. Daß in unseren Versuchen nun auch bei befruchteten Eiern die Höhe der Atmung durch die inzwischen eintretende Cytolyse gar nicht verändert wird, scheint uns deshalb wichtig, weil die Atmung der befruchteten Eier an sich weit empfindlicher ist als die der unbefruchteten Seeigeleier, und weil es sich hier nicht um einen „latenten" Lebenszustand handelt, wie bei den unbefruchteten Eiern, sondern gerade um außerordentlich vitale Zellen. Diese Beobachtung zeigt, daß die Atmung nicht unbedingt an das Leben gebunden ist. Eine eingehende Untersuchung dieser Frage war uns leider bisher nicht möglich, weil für die Arbeit am Aquarium in Neapel nur eine sehr kurz bemessene Zeit zur Verfügung stand.

[10] Warburg, O.: Hoppe-Seylers Z. **92**, 231 (1914); Pflügers Arch. **158**, 189 (1914).

Anschließend haben wir geprüft, wie die mit Cholestenonsulfosäure vorbehandelten Eier auf eine „Schädigung" der bisher gebrauchten Art (Saponin) reagieren. Wie aus Abb. 5 ersichtlich ist, zeigt nur der erste Versuchsansatz, der mit der kleineren Dosis (100 γ) Cholestenonsulfosäure vorbehandelt war, den charakteristischen Atmungsanstieg, der zweite Versuchsansatz dagegen nicht mehr. Hierin gab sich zu erkennen, daß es sich bei den cytolysierten Zellen nicht mehr um normale lebende und „reaktionsfähige" Zellen handelte, obwohl die Atmung scheinbar „normal" war. Dies Ergebnis zeigt besonders klar, daß aus der Höhe der Atmung in dieser Hinsicht gar nichts geschlossen werden kann, daß aber die „Belastungsprobe" durch Applikation eines „schädigenden" Agens ein recht klares Bild zu geben vermag.

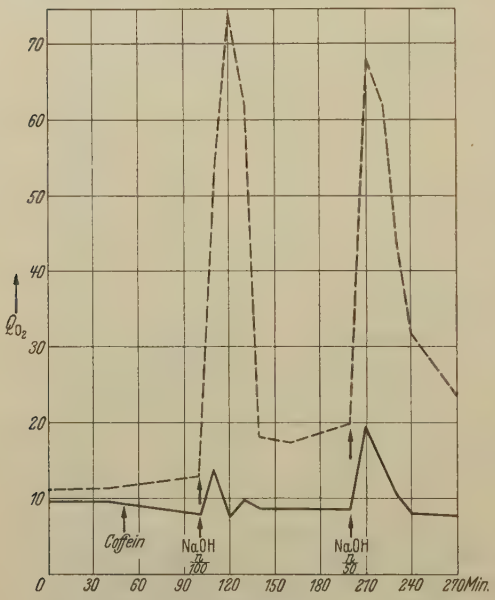


Abb. 6. Coffein (2000 γ/ccm) ist ohne Wirkung auf die Höhe der Atmung, obwohl es die Zellteilung hemmt. Bei Eiern, die mit Coffein vorbehandelt sind (durchgezogene Kurve), löst jedoch ein Zusatz von Natronlauge (Endkonzentration n/100 bzw. n/50) einen weit kleineren Atmungsanstieg aus als bei nicht vorbehandelten Eiern (gestrichelte Kurve).

Aber auch dieser „Test" ist nur bedingt eindeutig, so daß er durch eine morphologische Untersuchung ergänzt werden muß, wie der folgende Versuch in analoger Anordnung wie die beiden vorher geschilderten Versuche zeigt. Im Coffein lernten wir eine weitere Substanz kennen, die, ähnlich wie Colchicin und Cholestenonsulfosäure, die Zellteilung elektiv hemmt, auf die Atmung dagegen auch in den höchsten Konzentrationen ohne nachweisbare Wirkung war (Abb. 6). Von der Cholestenonsulfosäure unterschied das Coffein sich aber dadurch, daß es die Eier nicht sichtbar schädigte. Vielmehr lebten diese im coffeinhaltigen Meerwasser anscheinend ebenso gut, die Larven (Plutei) bewegten sich in diesem Milieu tagelang ebenso lebhaft wie in normalem Meerwasser. Lediglich die Zellteilung und Entwicklung war vollkommen aufgehoben. Das Leben an sich war aber offenbar nicht im mindesten gestört[11].

Trotzdem verhielten sich mit Coffein vorbehandelte Eier insofern anders als normale Eier, als eine folgende „Schädigung" (z. B. Saponin, Natronlauge, Hypertonie u. a.) nicht mehr den starken Anstieg der Atmung auslöste, wie an unvorbehandelten Eiern, sondern nur einen wesentlich

[11] Druckrey, H., u. E. Schreiber: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **188**, 208 (1938).

geringeren (Abb. 6). Das kann nicht daran liegen, daß die Eier durch die Vorbehandlung mit Coffein zu stark geschädigt waren und deshalb nicht mehr kräftig reagieren konnten, denn eine nochmals wiederholte „Schädigung" führte wieder zu einem ähnlichen Anstieg der Atmung, und zwar bei Anwendung einer höheren Dosis auch zu einem etwas höheren Anstieg (Abb. 6), während bei Annahme einer schweren Schädigung durch das Coffein nun hätte ein Atmungsabfall eintreten müssen. Die Vorbehandlung mit Coffein kann also die Eier nicht schwer geschädigt haben. Das ergab auch unsere frühere obenerwähnte Beobachtung, daß die Seeigelkeime im Larven- oder Blastula-Stadium sich im coffeinhaltigen Meerwasser tagelang ebenso frisch und lebhaft bewegen wie in reinem Meerwasser.

Um Klarheit über diese merkwürdige Wirkung des Coffeins zu bekommen, haben wir später ähnliche Versuche an Warmblütergeweben vorgenommen. Wir hatten früher gefunden, daß Gewebsschnitte von Speicheldrüsen auf Zusatz von Azetylcholin ebenfalls mit einem kräftigen Anstieg der Atmung reagieren[7]. Wir haben nun untersucht, ob auch dieser Atmungsanstieg durch Vorbehandlung mit Coffein (Endkonzentration 10^{-5} bis 10^{-3}) gedämpft werden kann. Zunächst stellten wir fest, daß sich der Stoffwechsel auf den Coffeinzusatz gar nicht ändert. Azetylcholin löste dann an den vorbehandelten Schnitten dieselbe Stoffwechselreaktion aus wie an den unbehandelten Schnitten. Wir können also die besondere Wirkung des Coffeins auf die Seeigeleier nicht erklären.

Die Versuche mit Coffein haben wir mit angeführt, um zu zeigen, daß Seeigeleier ,die mit einer die Atmung nicht unmittelbar beeinflussenden Substanz vorbehandelt waren, sich gegenüber einer folgenden (stoffwechselwirksamen) Schädigung je nach der Art der Vorbehandlung (Colchicin Cholestenonsulfosäure oder Coffein) ganz verschieden verhalten. Wurde dagegen, wie im ersten Teil unserer Arbeit gezeigt ist, mit einer Substanz vorbehandelt, die einen Atmungsanstieg auslöste (Saponin, Natronlauge, Emetin u. a.), so war die Wirkung einer wiederholten „Schädigung" weitgehend unabhängig davon, mit welcher Substanz vorbehandelt worden war, stets gleich, sofern nur der Grad der erzielten Schädigung in den Vergleichsversuchen übereinstimmte. Das könnte dafür sprechen, daß die letztgenannten Stoffe zwar auf verschiedene Weise, aber letzten Endes doch alle dieselbe „Schädigung" des Cytoplasmas bewirken und daher auch die Reaktion der Atmung auf eine wiederholte Schädigung in gleicher Weise beeinflussen. Die Stoffe der ersten Gruppe („Kerngifte" [9]) scheinen hingegen beträchtlich verschiedene Wirkungen zu haben. Vielleicht ist es möglich, mit solchen Methoden in die Frage der Wirkungsweise dieser Stoffe weiter einzudringen. Zunächst lassen die Ergebnisse erkennen, daß sich hinter einer „normalen" Atmung ganz verschiedene Zustände der Zellen verbergen können, die erst durch Anwendung der beschriebenen Kriterien erkannt und weiter analysiert werden können. Damit geben unsere Versuche eine brauchbare Möglichkeit, den wichtigen Zustand der „Allobiose" in seiner allgemeinsten Form, nämlich als Folge einer „Schädigung", näher kennenzulernen und unter Umständen auch quantitativ zu erfassen.

5.

Bei der Untersuchung der Wirkung verschiedener, mutmaßlich „schädigender" Stoffe auf die Atmung von Seeigeleiern war uns aufgefallen, daß das Ausmaß der auftretenden Stoffwechselsteigerung durch Erhöhung der Dosis nur bis zu einem bestimmten Wert gesteigert werden konnte. Höhere Dosen hatten dann nicht den gleichen, sondern einen geringeren Effekt (Abb. 2). Da die Wirkung „übergroßer" Reize oft geringer ist als die mittleren Reize, glaubten wir zunächst, diesem Phänomen nicht weiter nachgehen zu sollen, bis wir dann die Beobachtung machten, das sehr stark schädigende Stoffe, wie z. B. das Sublimat, das in niedriger Dosis auch einen Anstieg der Atmung auslöst, in hohen Dosen nicht nur keinen erhöhten Sauerstoffverbrauch auslöst, sondern gerade eine sehr beträchtliche Freisetzung von Gas bewirkt. Da diese Gasfreisetzung bei Einkippen des Sublimats in reines Meerwasser ohne Eier („Thermobarometer-Kontrolle") nicht erfolgte und auch in eiweißhaltigen Lösungen oder in Suspensionen abgetöteter Seeigeleier ausblieb, mußten wir annehmen, daß das Gas durch die lebenden Zellen gebildet wird. An CO_2 war zunächst nicht zu denken, da unsere Gefäße einen Einsatz mit Kalilauge zur Absorption des CO_2 enthielten. Gasförmiges NH_3 kam bei der neutralen Reaktion des Meerwassers ebenfalls nicht in Frage. Sauerstoff konnten wir ausschließen, da die Menge des freigesetzten Gases dieselbe blieb, wenn wir zur Kalilauge im Einsatz des Gefäßes Pyrogallol zugesetzt hatten. Auch Wasserstoff konnte es nicht sein, denn in Gefäßen mit eingelegtem Platinasbest bekamen wir dieselben Ausschläge wie in der üblichen Anordnung.

Die Feststellung, daß bei weiterer Beobachtung des Versuchs in den Gefäßen mit Kalilauge später gerade so viel Gas wieder verschwand, wie entstanden war, in parallel angesetzten Gefäßen ohne Kalilauge dagegen kein Gas mehr verschwand, sondern scheinbar sogar mehr gebildet wurde, zeigte uns dann, daß es sich doch um CO_2 handelte, und zwar mußten insgesamt etwa 200—300 cmm CO_2 gebildet worden sein. Die Absorption größerer Mengen entstandener CO_2 durch Kalilauge muß also so langsam vor sich gehen, daß in unseren Versuchen nicht nur die gesamte gesteigerte Atmung völlig kompensiert wurde, sondern darüber hinaus noch gasförmiges CO_2 in Erscheinung trat.

Da diese Frage methodisch von größter Bedeutung ist, haben wir die Geschwindigkeit der CO_2-Absorption durch Kalilauge in der gleichen Versuchsanordnung wie wir sie bei den Stoffwechselversuchen gebraucht haben, untersucht[12]. Dabei zeigte sich, daß die Absorption selbst geringer Mengen CO_2 nicht praktisch zeitlos erfolgt, wie bei Anwendung der „direkten" Methode vorausgesetzt wird, sondern einen beträchtlichen Zeitfaktor hat. Berücksichtigt man ferner, daß die Freisetzung des CO_2 im Versuch nicht, wie im Modell, auf einen Augenblick beschränkt ist, sondern

[12] Brock, N., H. Druckrey u. R. Richter: Biochem. Z. **303**, 286 (1939).

daß viele Minuten lang fortlaufend große Mengen CO_2 gebildet werden, so ist verständlich, daß die Absorption nicht Schritt halten kann.

6.

Die Gesamt-CO_2-Bildung muß also in den geschilderten Versuchen ganz erheblich größer gewesen sein als die verbrauchte Sauerstoffmenge. Da der respiratorische Quotient maximal 1 betragen kann (siehe oben), kann das überschüssige CO_2 nur durch „fixe" Säuren, die nach der Schädigung im Stoffwechsel gebildet wurden, aus dem Bicarbonat des Meerwassers ausgetrieben sein.

Diese Frage war für uns von größter Wichtigkeit. In Versuchen an Warmblütergeweben[1] hatten wir nämlich gefunden, daß eine „Schädigung" nicht nur eine Steigerung der Atmung auslöst, sondern auch eine Bildung „fixer" Säuren („aerobe Glykolyse"). Bisher hatten wir diese an Warmblütergeweben erhobenen Befunde in Versuchen am Seeigelei nur hinsichtlich der Atmungssteigerung bestätigen können, weil die CO_2-Bildung mit der „direkten" Methode nicht erfaßt wird und die sogenannte „indirekte" Methode eine Reihe beträchtlicher Schwierigkeiten bietet. Eine Bestätigung auch hinsichtlich der Bildung „fixer" Säuren würde unsere Auffassung, daß die beschriebene Reaktion des Zellstoffwechsels auf „schädigende" Eingriffe in der belebten Welt weit verbreitet ist, ganz wesentlich stützen. Wir haben deshalb versucht, den Befund einer Entstehung „fixer" Säuren neben der Atmungssteigerung nach „Schädigung" am Seeigelei zu sichern und quantitativ zu erfassen. Dies um so mehr, als Runnström[13] bereits an „geschädigten" Eiern eine solche Säurebildung beobachtet hatte. Über ihren zeitlichen Verlauf und vor allem ihre Beziehung zu der von uns beschriebenen „Reaktion" des Stoffwechsels auf eine Schädigung lagen indessen noch keine Beobachtungen vor.

Die sogenannte „indirekte" Methode (Warburg) ist insofern bei Seeigeleiern nur mit Einschränkung anwendbar, als hierbei die entstehende CO_2 ja nicht durch Lauge absorbiert wird, sondern im System verbleibt und sich anhäuft. Da das CO_2 aber, wie wir stets fanden, bei Überschreiten einer kritischen Konzentration nicht nur die Entwicklung der Eier, sondern auch den Stoffwechsel hemmt, kann ein „indirekter Versuch" nur über kurze Zeit durchgeführt werden, und zwar um so kürzere Zeit, je mehr CO_2 gebildet wird.

Wir haben die hierin gelegenen Fehlerquellen durch Auswahl geeigneter Versuchsbedingungen, vor allem durch Anwendung nicht zu dichter Eisuspensionen möglichst klein gehalten, so daß es uns gelang, die Beobachtungszeit bis zu etwa 2 Stunden auszudehnen. Als „schädigende" Substanzen benutzten wir dieselben Stoffe wie in den Versuchen mit der „direkten" Methode. Sie wurden auch hier aus einem Ansatz während des

[13] Runnström, J.: Protoplasma (D). **15**, 532 (1932).

Versuchs der Eisuspension zugegeben. Das Ergebnis (Abb. 7) deckt sich so vollkommen mit unseren Befunden an Warmblütergeweben [1], daß aus dem Verlauf der Kurve nicht zu ersehen ist, ob es sich um die Wirkung einer „Schädigung" auf Seeigeleier oder auf Schnitte eines Warmblüterorgans gehandelt hat. Die Wirkung war hier insofern völlig unspezifisch, als sie auch durch andere Eingriffe ausgelöst werden konnte, sofern sie nur die Zelle schädigten, wie wir dies bereits für die Atmungssteigerung am Seeigelei gezeigt haben und schon von unseren Versuchen an Warmblütergeweben her kannten [1].

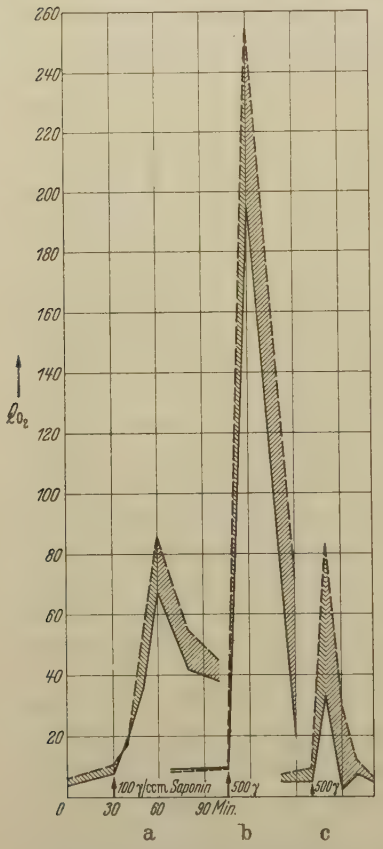


Abb. 7. Auch an Seeigeleiern löst ein „schädigender" Eingriff nicht nur einen Atmungsanstieg, sondern auch eine beträchtliche „aerobe Säurebildung" aus (Kurve *a*). Bei Anwendung der „indirekten Methode" (Warburg) tritt nach Zusatz von 500 γ/ccm Saponin ein weit stärkerer Atmungsanstieg in Erscheinung als bei Messung mit der „direkten" Methode (Kurve *b*, vgl. Abb. 2). Geschädigte Eier (Hypertonie) reagieren auf die gleiche Dosis Saponin mit einer weit geringeren Atmungssteigerung, aber mit einer relativ sehr starken „Säurebildung" (Kurve *c*). Unbefruchtete Eier.

Die völlige Übereinstimmung der Wirkung eines schädigenden Eingriffs auf den Stoffwechsel sowohl bei Warmblütergeweben wie bei den ganz andersartigen Seeigeleiern macht wahrscheinlich, daß dies Phänomen vielleicht so allgemein verbreitet ist wie die grundlegende Funktion des Kohlehydratstoffwechsels überhaupt. Das dürfte besonders mit Hinblick darauf bedeutsam erscheinen, daß auch die „physiologische Erregung" bei Seeigeleiern, nämlich die Befruchtung, nicht nur eine Atmungssteigerung auslöst, die der nach „Schädigung" entsprechend verläuft, sondern auch eine ganz entsprechende „aerobe Säurebildung", wie Runnström [14] zeigen konnte, und daß weiterhin auch die „physiologische Erregung" bei Speicheldrüsenschnitten von Hund, Katze oder Ratte ebenso beide Wirkungen auf den Stoffwechsel hatte [7] wie ein „schädigender" Eingriff an gleichen oder anderen Geweben. Die auf einen Reiz hin erfolgende Änderung des Kohlehydratstoffwechsels scheint also weitgehend unabhängig davon zu sein, um welche Art von Zellen es sich dabei handelt und ob der Reiz „physiologisch" oder „unphysiologisch" war, sofern er nur einen Schwellenwert überschritt.

[14] Runnström, J.: Protoplasma (D.) **20**, 1 (1934).

Da einerseits die Menge des nach einer schweren „Schädigung" gebildeten CO_2 recht beträchtlich sein kann, wie es sich auch aus der abgebildeten Kurve ergibt, und andererseits die Absorption des CO_2 durch Kalilauge im „direkten" Versuch, wie wir sahen, nicht so schnell erfolgt, ist anzunehmen, daß das gebildete CO_2 einen Teil der Atmungssteigerung verdecken kann, wenn einmal die CO_2-Produktion so stark wird, daß die Absorption mit ihr nicht Schritt halten kann. So würde die obenerwähnte Beobachtung verständlich, daß in den Versuchen mit der „direkten" Messung der Atmung die Höhe der Atmungssteigerung bei Überschreiten einer „optimalen" Dosis nicht mehr zunahm, sondern daß sehr hohe Dosen einen geringeren Anstieg bewirkten als mittlere Dosen.

Ob und in welchem Umfang das tatsächlich der Fall ist, haben wir durch Anwendung der „indirekten" Methode neben der „direkten" geprüft, indem wir den Stoffwechsel nach Applikation einer geringen bzw. einer hohen Konzentration eines schädigenden Stoffes, im Beispiel Saponin, untersuchten. Das Resultat geht aus den Abb. 2 und 7 hervor. Bei Untersuchung mit der „direkten" Methode verursachten 500 γ ccm Saponin einen geringeren Anstieg der Atmung als 100 γ ccm (Abb. 2). Mit der „indirekten" Methode fanden wir dagegen bei der höheren Dosis auch einen erheblich stärkeren Anstieg der Atmung (Abb. 7a und b). Die Gesamtmenge des gebildeten CO_2 erreichte dabei den dreifachen Betrag, wie im Versuch mit der geringeren Dosis, womit der scheinbar geringere Effekt auf die Atmung bei Anwendung der „direkten" Methode erklärt ist.

Die Höhe des Atmungsanstieges läßt sich indessen durch Erhöhung der Dosis natürlich nicht beliebig steigern, sondern ist begrenzt. Höhere Werte als 260 für das Q_{O_2} nach unserem Bezugsystem (pro 100 cmm Eier und Stunde, reduziert) haben wir nie beobachtet. Wurde die Dosis weiter gesteigert, so nahm die Höhe des Anstiegs tatsächlich ab. Die Verhältnisse liegen also durchaus so, wie es zunächst den Anschein hatte. Die Versuche mit der „indirekten" Methode zeigen lediglich, daß die mit der „direkten" Methode erhobenen Befunde insofern korrekturbedürftig sind, als die „optimale" Konzentration in Wirklichkeit höher liegt, als es die „direkte" Methode vortäuscht.

7.

Bei unseren Versuchen mit wiederholter Einwirkung eines schädigenden Eingriffs hatten wir, wie wir schon eingangs erwähnten, beobachtet, daß Seeigeleier, die bereits auf irgendeine Weise geschädigt waren, schon auf mittlere Dosen einer schädigenden Substanz, die bei normalen Eiern noch stärkste Atmungssteigerungen bewirkten, weit schwächer oder sogar mit einem Abfall der Atmung reagierten (Abb. 4). Da auch hier der geringere Effekt wenigstens in einem Teil der Fälle durch eine größere CO_2-Produktion, die die Atmung einfach überdeckt, in ähnlicher Weise vorgetäuscht

sein könnte, wie in den oben geschilderten Versuchen, haben wir mit Hilfe der „indirekten" Methode die Größe der CO_2-Produktion nach Einwirken einer zweiten „Schädigung" untersucht. Die Abb. 7c bringt als Beispiel die Wirkung von 500 γ/ccm Saponin auf den Stoffwechsel von Seeigeleiern, die vorher durch Behandlung mit einer hypertonischen Lösung bereits geschädigt waren. Die Kurve kann also mit der in Abb. 7b verglichen werden, in der ebenfalls die Wirkung von 500 γ Saponin jedoch an unvorbehandelten Eiern wiedergegeben ist. Dabei kommt ein beträchtlicher Unterschied zur Geltung. Die „geschädigten" Eier haben mit einer wesentlich geringeren Atmungssteigerung aber weitaus größeren Säurebildung reagiert, die die Höhe der Atmung um mehr als 100% übersteigt. Das Ergebnis entspricht früheren Versuchen an Warmblütergeweben insofern, als wir auch da bei Zunahme der Schädigung ein Hervortreten der aeroben

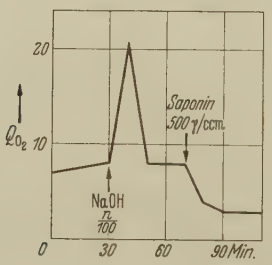


Abb. 8. An bereits stärker „geschädigten" Eiern bewirkt eine erneute starke „Schädigung" (500 γ pro ccm Saponin) auch dann einen sofortigen Abfall der Atmung, wenn die erste „Schädigung" durch eine Lauge erfolgte (n/100 NaOH, Endkonzentration).

Säurebildung gegenüber der Atmung fanden, wobei die Stoffwechselsteigerung schließlich immer geringer wurde.

„Geschädigte" Zellen reagieren also auf einen bestimmten „Reiz" anders als normale Zellen, und zwar bilden sie relativ sehr große Mengen „fixer Säuren". Diese Säurebildung kann bei Anwendung der „direkten" Methode die Atmung um so vollständiger verdecken, als die Atmungssteigerung nach einer wiederholten „Schädigung" an sich schon viel geringer ist als nach Einwirken der gleichen Schädigung auf normale Eier. Bei der relativ geringen Geschwindigkeit der CO_2-Absorption könnte sogar ein mit der „direkten" Methode gefundenes Absinken der Atmung bis zum Nullwert nach einer „Schädigung" auf diese Weise vorgetäuscht werden.

Das gilt jedoch nicht für alle Fälle. Vielmehr konnten wir den Nachweis führen, daß sehr starke „Schädigungen" an bereits geschädigten Eiern tatsächlich sofort einen Atmungsabfall auslösen können, während der gleiche Eingriff an normalen Eiern noch eine maximale Stoffwechselsteigerung auslöste. Wir benutzten dazu die „direkte" Methode derart, daß wir entweder von vornherein mit etwas alkalisch gemachtem Meerwasser arbeiteten oder als erste Schädigung eine Lauge einwirken ließen. Dadurch war das Meerwasser soweit alkalisch, daß es nicht mehr zur Anhäufung von CO_2 im Gasraum kommen konnte, die Höhe der Atmung also

voll erfaßt werden mußte. Trotzdem lösten die angewendeten hohen Dosen schädigender Stoffe (z. B. Saponin, Sublimat u. a.) an geschädigten Zellen unmittelbar einen Atmungsabfall aus (Abb. 8), wie wir bereits in einer vorangegangenen Arbeit gezeigt haben [1]. Damit ist mit einer weiteren Versuchsanordnung nachgewiesen worden, daß Seeigeleier, auf die bereits eine „Schädigung" eingewirkt hat, sich in einem Zustand herabgesetzter Resistenz befinden, obwohl ihre Atmung in normaler Höhe verläuft oder sogar gesteigert ist.

Ein Vergleich der Ergebnisse, die bei gleicher Behandlung einmal mit der „direkten" und zum anderen mit der „indirekten" Methode gewonnen wurden, zeigt, daß beide Methoden Werte liefern, die die tatsächlichen Verhältnisse nur bis zu einem gewissen Grade exakt wiedergeben. Die „direkte" Methode, bei der die CO_2 durch KOH absorbiert wird, hat für die Untersuchung den Vorteil, daß sie im CO_2-armen Milieu arbeitet und damit in dieser Hinsicht physiologische Verhältnisse wahrt. Dabei ist jedoch zu berücksichtigen, daß die Absorption des CO_2 in den üblichen Gefäßen einen beträchtlichen Zeitfaktor hat. Der Nachteil der „direkten" Methode liegt in der Unmöglichkeit, auch die Bildung von CO_2 und „fixen" Säuren zu messen. Das erlaubt aber die „indirekte" Methode, bei der die Untersuchung jedoch unter unphysiologischen Verhältnissen erfolgt, weil bei ihr das CO_2 nicht absorbiert wird. Bei entsprechender Berücksichtigung dieser Fehlerquellen können sich beide Methoden, wie wir sahen, gut ergänzen.

Zusammenfassung.

Stoffwechselversuche an Seeigeleiern (Sphaerechinus granularis), die durch verschiedenartige Eingriffe und Substanzen, z. B. Saponin, Emetin, Cephaelin, Sublimat, Cholestenonsulfosäure, Natronlauge, hypertonische und hypotonische Lösungen „geschädigt" wurden, hatten folgende Ergebnisse.

1. Frühere Befunde, nach denen solche „Schädigungen" einen steilen Anstieg der Atmung um mehrere 100% auslösen, wurden bestätigt und erweitert. Diese Atmungssteigerung konnte so regelmäßig durch eine Schädigung ausgelöst werden und stellte eine so empfindliche Reaktion dar, daß sie zum Nachweis einer Schädigung der Zelle (Cytoplasma) dienen kann.

2. Eine Atmungshemmung war dagegen auch an sichtbar geschädigten Zellen nur selten nachweisbar. Selbst cytolysierte Seeigeleier zeigten noch eine kräftige Atmung. Es ist also unmöglich, aus der Höhe der Atmung Schlüsse auf die Lebenstüchtigkeit der Zellen zu ziehen.

3. Wirkten mehrere „Schädigungen" in Abständen hintereinander auf Seeigeleier ein, so verhielt sich der Stoffwechsel je nach der Schwere der Schädigung bzw. je nach der angewendeten Dosis verschieden. Niedrige Dosen lösten auch bei Wiederholung bis zu viermal stets eine Stoffwechsel-

steigerung aus. Die Zellen sind also allem Anschein nach in der Lage, sich nach einer „Schädigung" wieder vollständig zu erholen. Die Erholung benötigt eine gewisse Zeit. Wurde der Eingriff zu früh wiederholt, blieb er ohne die beschriebene Wirkung. — Bei Anwendung höherer Dosen war die Stoffwechselsteigerung nach der zweiten Dosis geringer als nach der ersten oder blieb überhaupt ganz aus. Es trat also innerhalb der Zwischenzeit keine vollständige Erholung mehr ein. Auf eine starke „Schädigung" erfolgte bei bereits vorher geschädigten Eiern sofort ein steiler Atmungsabfall.

4. Ebenso, wie dies bereits für Warmblütergewebe nachgewiesen wurde, tritt auch an geschädigten Seeigeleiern eine „aerobe Säurebildung" auf. Bereits geschädigte Eier reagieren auf eine erneute „Schädigung" mit einem geringeren Atmungsanstieg aber einer stärkeren Säurebildung,, verhalten sich also anders wie unvorbehandelte normale Eier („Allobiose").

Aus der Medizinischen Univ.-Klinik Göttingen. (Direktor: Prof. Dr. Schoen.)

Über die Beziehungen zwischen Hypophysenvorderlappen, Schilddrüse und Nebenniere bei D-Avitaminose.

Von

Ernst Schulze und **Martin Flach.**

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 23. September 1939.)

Über die Bedeutung des Vitamins D für die Funktion der Schilddrüse wurde in den Untersuchungen, die sich bisher mit dieser Frage beschäftigten, keine Einigkeit erzielt.

A. Nitschke (1) fand bei Rachitis ein inaktives Schilddrüsenbild, den Grundumsatz erniedrigt und eine Senkung des Blutjodspiegels. Entsprechende therapeutische Gaben von Vigantol konnten diese Veränderungen ausgleichen. Große, über die Grenze des Therapeutischen hinausgehende Dosen führten umgekehrt zur Steigerung der Schilddrüsentätigkeit, die sowohl histologisch, wie im Grundumsatz und in der Erhöhung des Blutjodspiegels zum Ausdruck kam. Durch die Untersuchungen von F. Thoenes (2) und L. Haag (3) wurden die Nitschkeschen Befunde in Frage gestellt: hiernach bestehen keine Beziehungen zwischen Rachitis und Schilddrüse. Es wurde weiter von H. Deutsch, Reed und Struck (4) gezeigt, daß die von Nitschke nach Vigantolverabreichung gesehene Grundumsatzsteigerung auch bei schilddrüsenlosen Hunden — wenn auch nicht in dem Ausmaße wie bei normalen Tieren — hervorgerufen werden kann. Im Gegensatz zu Nitschke berichten Fasold (5) und Töpfer (6), daß sich der Blutjodspiegel bei Rachitis nicht ändere, die Schilddrüse dagegen aktiver werde; allerdings sei dies nicht auf Vitamin-D-Mangel, sondern auf die bei Rachitis gestörte Ca : P-Relation zurückzuführen. Auch Glanzmann (7) meint, daß die Schilddrüsenveränderungen bei Rachitis nichts mit dem Ausfall an Vitamin D zu tun hätten, da die Schilddrüsenveränderungen durch Jodgaben ausgeglichen werden könnten, ohne daß die Rachitis heile. In letzter Zeit schreibt U. Uotila (8), daß bei D-Vitaminmangel eine leichte, aber nicht regelmäßige Vermehrung der Drüsenfunktion hervorgerufen wird. Coormaghtigh und Handovsky (9) meinen dagegen, es sei die Vitamin-D-Zufuhr, die die Schilddrüsentätigkeit anrege, und zwar — wie sie anführen — über das thyreotrope Hormon.

Das Gesamtergebnis, das hiernach aus den mitgeteilten Arbeiten hervorgeht, ist widerspruchsvoll und unvollständig. Wir hielten es daher für aussichtsreich, im Rahmen bereits durchgeführter Untersuchungen (10) über die Bedeutung der einzelnen Vitamine für die Schilddrüsenfunktion zu prüfen, wie sich die Schilddrüse und der ihr übergeordnete thyreotrope Anteil des Hypophysenvorderlappens (HVL) bei den klar und einfach zu übersehenden Verhältnissen der reinen, durch die Komplikation der Rachitis mit ihrem gestörten Mineralhaushalt nicht entstellten D-Avitaminose verhält.

Als Versuchstiere dienten junge Ratten mit einem Anfangsgewicht von ungefähr 90 g. Um eine reine D-Avitaminose hervorzurufen, erhielten 16 Tiere die von Steenbock und Black (11) angegebene vitamin-D-arme Kost, deren Ca : P-Quotient normal ist. Zusätzlich wurde jedem Tier zweimal die Woche je 0,1 ccm Vogan 1 : 100 in vitaminfreiem Arachisöl verfüttert. Eine Kontrollgruppe von 16 Tieren wurde in derselben Weise behandelt, nur daß auf 1 kg der Steenbock-Blackschen Kostmischung je 5 ccm Vigantol 1 : 300 hinzugefügt wurden. Ehe den Tieren die Diät gegeben wurde, beobachteten wir ihr Verhalten zunächst für eine Reihe von Tagen bei Normalkost. 16 weitere Ratten blieben von Anfang bis Schluß des Versuchs auf Normalkost.

Die Tiere saßen zu je acht in geräumigen Käfigen, die vollkommen verdunkelt waren. Koprophagie wurde verhindert. Am Ende der Versuchszeit wurden die Ratten durch Nackenschlag getötet und ihre Schilddrüsen nach Wägung zur histologischen Verarbeitung in Formalin fixiert. Die Hypophysen der Tiere wurden nach steriler Entnahme und Wägung infantilen Meerschweinchen (150—175 g) intraperitoneal injiziert. Jedes Empfängertier erhielt dabei in Abständen von je 24 Stunden im ganzen zwei Hypophysen zugeführt. Die Meerschweinchen wurden nach weiteren 24 Stunden getötet und ihre Schilddrüsen histologisch untersucht.

Die Beurteilung der Rattenschilddrüsen erfolgte nach den von F. Kampelmann (12) angegebenen Kriterien: (aktiv ↔ inaktiv, I, II, III, IV, V).

Für die Beurteilung der Schilddrüsentätigkeit der Meerschweinchen benutzten wir die Bezeichnungsweise von Heyl und Laqueur (13): (inaktiv ↔ aktiv, *p q r s t u*).

Während der Dauer des Versuchs wurden die Ratten fortlaufend gewogen und ihr Allgemeinzustand und ihr besonderes Verhalten beobachtet. Abb. 1 gibt die aus den Mittelwerten berechnete Gewichtskurve der drei Versuchsgruppen wieder. In der Vorperiode, in der sich die drei Versuchsgruppen auf Normalkost befinden, nimmt das Gewicht aller Ratten gleichmäßig zu. Beim Wechsel auf die Diät sinkt die Gewichtskurve der Versuchsgruppen 1 und 2 akut ab, ehe sich die Tiere an die neue

Kost gewöhnen; während die Gewichtskurve der Ratten aus der bei Normalkost belassenen Versuchsgruppe 3 weiter steigt: diese Tiere haben am Schluß des Versuchs — 35 Tage nach diesem Zeitpunkt — 20,5% an Gewicht zugenommen. Die auf Avitaminose-D-Diät ohne und mit Vigantolzulage gesetzten Tiere der Versuchsgruppen 1 und 2 nehmen vom 4. Tage nach dem Diätbeginn wieder zu. Äußerlich und in ihrem Verhalten unterscheiden sie sich in nichts von den Normaltieren. Die Tiere mit Vigantolzulage holten ihren anfänglichen Gewichtsverlust wieder ein und hatten am Ende des Versuchs sogar um 8,0% ihres Gewichts bei Diätbeginn zugenommen. Bei den Ratten des eigentlichen D-Avitaminoseversuchs (Gruppe 1) tritt nach ungefähr 3 Wochen Gewichtsstillstand und schließlich sogar ein geringer Gewichtsverlust (9,6% des Gewichts bei Diätbeginn) ein.

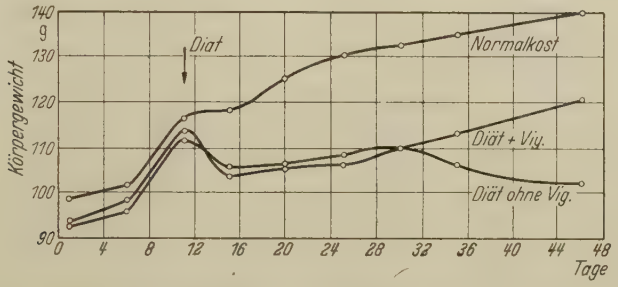


Abb. 1. Verhalten des Körpergewichts der einzelnen Versuchsgruppen.

Dieses Verhalten bezeichnete uns den Zeitpunkt, zu dem wir das Vorliegen einer D-Avitaminose bei den Tieren annehmen konnten. Wir töteten die Tiere je zur Hälfte an zwei aufeinanderfolgenden Tagen durch Nackenschlag und übertrugen ihre Hypophysen. Die Befunde von den Schilddrüsen und den Hypophysen (und auch das Ergebnis der Wägung der Nebennieren) werden für die einzelnen Gruppen in den Tabellen 1, 2 und 3 mitgeteilt.

Aus den Tabellen geht hervor, daß sich die Schilddrüsen der beiden Kontrollgruppen bei der histologischen Auswertung im Mittel etwas weniger aktiv als der Stufe III entspricht verhielten. Für die Versuchsgruppe 2 errechnet sich ein Mittelwert von 3,2, für die Versuchsgruppe 3 ein solcher von 3,1. Die Werte entsprechen den von anderen Untersuchern (10, 12, 14) und in eigenen früheren Arbeiten für die normale Rattenschilddrüse ermittelten. Die Schilddrüsen der vitamin-D-frei ernährten Ratten (Mittelwert 2,7) zeigten insgesamt eine leichte Tendenz zur aktiven Seite, ohne daß man im einzelnen — mit Ausnahme der Versuchsnummern R 99 und R 94 — eine besondere Entfernung vom Normalbild feststellen konnte. Dieser Befund deckt sich etwa mit dem Bericht von Uotila (8) über das Verhalten der Schilddrüse bei D-Avitaminose.

Tabelle 1. Versuchsgruppe 1.

Ratte Nr.	Anfangskörpergewicht	Endkörpergewicht	Gewicht der Nebenniere in mg	Tätigkeitszustand der Schilddrüse	Gewicht der Schilddrüse in mg	Gewicht der Hypophyse in mg	Meerschweinchen, dem die beiden vorstehenden Hypophysen übertragen wurden	Tätigkeitszustand der Schilddrüse dieses Tieres	Gewicht der Schilddrüsen in mg
99	65	65	29	II	13	4	Ms 6	*r/s*	24
80	88	90	36	II/III	12	5			
81	90	110	43	II/III	18	4	Ms 4	*r/s*	35
89	80	105	44	III	11	5			
85	110	110	47	III	9	6	Ms 5	*s*	30
86	125	148	49	III/IV	14	4			
87	90	82	43	II/III	15	5	Ms 7	*r/(s)*	32
88	105	120	45	II/III	17	4			
91	115	103	44	III	16	3,5	Ms 10	*r/s*	28
92	115	120	38	III	12	5			
93	75	96	29	III/IV	13	4	Ms 8	*(r)/s*	29
96	70	90	41	III	10	4,5			
94	80	95	35	II	12	4	Ms 11	*r/s*	32
95	115	145	39	II/III	10	6			
97	75	80	34	II/III	14	4	Ms 9	*(r)/s*	22
98	90	95	28	III	15	5			

Tabelle 2. Versuchsgruppe 2.

Ratte Nr.	Anfangskörpergewicht	Endkörpergewicht	Gewicht der Nebenniere in mg	Tätigkeitszustand der Schilddrüse	Gewicht der Schilddrüse in mg	Gewicht der Hypophyse in mg	Meerschweinchen, dem die beiden vorstehenden Hypophysen übertragen wurden	Tätigkeitszustand der Schilddrüse dieses Tieres	Gewicht der Schilddrüsen in mg
60	85	115	30	III/IV	12	6	Ms 19	*(r)/s*	30
61	70	100	32	III	14	5			
63	120	135	40	III/IV	11	4	Ms 17	*s*	42
64	100	130	38	II	11	5			
65	65	105	36	III/IV	16	7	Ms 18	*r/s*	46
66	95	120	38	III	18	5			
62	90	110	34	IV	9	5	Ms 16	*s/(t)*	41
69	100	130	32	III	10	8			
70	87	120	41	II/III	10	5	Ms 14	*(r)/s*	30
71	100	140	46	III/IV	10	5			
72	120	155	38	III/IV	12	6	Ms 13	*s*	42
76	90	100	33	III/IV	11	7			
73	85	135	29	III/IV	14	5	Ms 12	*s*	29
74	90	125	40	III	9	4			
78	110	115	38	III/IV	15	5	Ms 15	*s*	40
79	90	103	37	III	16	6			

Tabelle 3. Versuchsgruppe 3.

Ratte Nr.	Anfangskörpergewicht	Endkörpergewicht	Gewicht der Nebenniere in mg	Tätigkeitszustand der Schilddrüse	Gewicht der Schilddrüse in mg	Gewicht der Hypophyse in mg	Meerschweinchen, dem die beiden vorstehenden Hypophysen übertragen wurden	Tätigkeitszustand der Schilddrüse dieses Tieres	Gewicht der Schilddrüsen in mg
1	85	118	26	III	11	5	Ms 46	*s*	41
10	110	150	30	III/IV	16	5			
2	120	180	38	III	12	6	Ms 61	*s*/(*t*)	35
3	110	165	41	III	9	5			
4	110	160	29	III	10	6	Ms 62	*s*	39
5	80	115	29	III/IV	10	4			
7	100	130	44	III	17	5	Ms 63	(*r*)/*s*	39
8	102	143	30	II/III	9	6			
11	65	87	44	III	12	4	Ms 21	*s*	36
12	95	145	41	III	15	5			
13	125	165	48	III/IV	11	6	Ms 23	(*r*)/*s*	29
14	102	135	45	IV	12	6			
15	110	160	41	II/III	9	7	Ms 22	(*s*)/*t*	35
16	90	145	42	III	14	6			
17	100	140	29	III	10	5	Ms 20	*s*	34
19	70	118	35	III/IV	11	4			

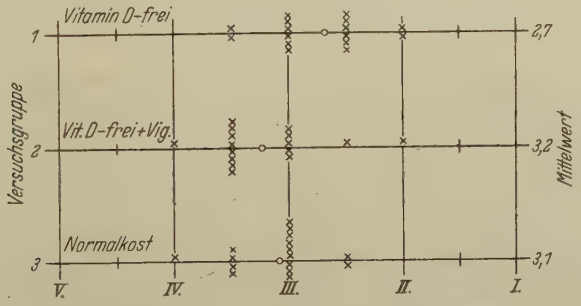


Abb. 2. Tätigkeitszustand der Rattenschilddrüsen.
× bedeutet Einzeltier.
o Mittelwert der Gruppen; am rechten Rand in Zahlen ausgedrückt.

Es zeigt sich weiter, daß die von Fasold (5) und Töpfer (6) bei Rachitis gesehene Schilddrüsenaktivierung nicht nur — wie diese Autoren annehmen — auf die gestörte Ca : P-Relation zurückzuführen ist, sondern zumindest ebenso auf den Vitamin-D-Mangel selbst. In Abb. 2 ist die Verteilung der einzelnen Schilddrüsenwerte für die drei Versuchsgruppen eingezeichnet.

Den Gehalt des den jeweiligen Schilddrüsen zugehörigen HVL an thyreotropem Hormon bestimmten wir nach der Übertragungsmethode (10)

histologisch am Test der infantilen Meerschweinchenschilddrüse. Diese werden um so aktiver, je mehr thyreotropes Hormon bei der Übertragung der Hypophysen der Spendertiere den Empfängertieren damit zugeführt wird. D. h. der Grad des Tätigkeitszustandes der Meerschweinchenschilddrüse ist ein Ausdruck für den Gehalt des HVL der Ratten an thyreotropem Hormon. Die Schilddrüsen unbehandelter infantiler Meerschweinchen liegen um die Stufe „q". Mit der Übertragung der Hypophysen der beiden Kontrollgruppen 2 und 3 werden die Meerschweinchenschilddrüsen auf „s" aktiviert. Eine Aktivierung auf diese Stufe zeigt in Übereinstimmung mit den erwähnten früheren Arbeiten (10, 14) einen normalen Gehalt an thyreotropem Hormon in der Rattenhypophyse an. Die Schilddrüsen der Meerschweinchen dagegen, welche die HVL der Gruppe 1 erhalten haben, bleiben in ihrer Aktivität merklich zurück gegenüber den Schilddrüsen

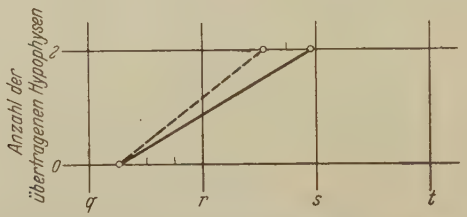


Abb. 3. Veränderungen der Meerschweinchenschilddrüse nach Übertragung von Hypophysen normaler (Kontroll-) und D-avitaminotischer Ratten. Am linken Rand Anzahl der übertragenen Hypophysen angegeben. Weitere Erklärungen im Text.

der Empfänger, welchen die HVL der Kontrolltiere zugeführt wurden. Der Gehalt des HVL an thyreotropem Hormon ist also bei D-Avitaminose vermindert. Die Abnahme der thyreotropen Wirksamkeit des HVL läßt sich quantitativ ausdrücken, wenn man die Beziehungen zwischen gereichter Menge thyreotropen Hormons und den sich ergebenden Veränderungen an der Schilddrüse zugrunde legt, wie sie Heyl und Laqueur (13) in mehreren Tabellen mitgeteilt haben. Danach beträgt die Minderung gegenüber dem Normalen etwa 30—40%. Der Unterschied im Ausmaß der Aktivierung der Hypophysen der einzelnen Versuchsgruppen wird durch Abb. 3 verdeutlicht. Der Abstand zwischen der ausgezogenen Linie, welche die Wirksamkeit der Kontrollrattenhypophysen darstellt, und der punktierten Linie, die die Wirksamkeit der D-Avitaminosehypophysen wiedergibt, sagt aus, daß der Gehalt der Hypophysen dieser Tiere an thyreotropem Hormon vermindert ist. Nachdem wir bei den Schilddrüsen der D-Avitaminosetiere eine leichte Tendenz zur aktiven Seite festgestellt haben, ist dieses Verhalten des HVL auffällig. Man muß daraus schließen, daß die Aktivierung der Schilddrüse bei D-Avitaminose nicht auf dem Wege über eine Funktionssteigerung des HVL zustande kommt; vielmehr führt die gesteigerte Ausschüttung von Schilddrüsenhormon sekundär zu einer Hemmung der thyreotropen Funktion des HVL, die der von G. Kuschinsky (15) nach

Injektion von Thyroxin gezeigten und Verhältnissen entspricht, wie sie der eine von uns zusammen mit F. Kampelmann (16) bei Kohlenoxydvergiftung beschrieben hat. Die Aktivierung der Schilddrüse bei D-Avitaminose erfolgt demnach nicht auf hormonalem Wege. Es bleibt die Frage offen, ob der Vitamin-D-Mangel auf die Schilddrüse unmittelbar einwirkt oder ob die Veränderungen der Schilddrüse auf einen primären Reiz im Zwischenhirn, der dem Organ auf nervösem Wege zugeleitet wird, zu beziehen sind.

Neben der histologischen Auswertung der Schilddrüsen wurden die Gewichte von Schilddrüsen, Hypophysen und Nebennieren der verschiedenen Versuchsgruppen bestimmt. Eine Übersicht über die gefundenen Werte geben Tabelle 4 und 5. Es sind darin die errechneten

Tabelle 4.

Behandlung der Ratten	Schilddrüsengewicht	Tätigkeitszustand der Schilddrüse	Hypophysengewicht	Nebennierengewicht
Versuchsgruppe 1: vitamin-D-frei	13,1 ± 1,52	2,7	4,5 ± 0,37	39 ± 3,30
Versuchsgruppe 2: vitamin-D-frei + Vigantol	12,3 ± 1,4	3,2	5,5 ± 0,55	36 ± 2,24
Versuchsgruppe 3: normale Tiere	11,7 ± 1,3	3,1	5,3 ± 0,52	37 ± 3,60

Organgewichte der Ratten in mg (Mittelwerte). (Grenzen ± = doppelter mittlerer Fehler.)

Tabelle 5.

Behandlung der Spendertiere	Schilddrüsengewicht	Tätigkeitszustand der Schilddrüse
Versuchsgruppe 1: vitamin-D-frei	28,9 ± 3,06	*r/s*
Versuchsgruppe 2: vitamin-D-frei + Vigantol	37 ± 4,4	*s*
Versuchsgruppe 3: normale Tiere	36 ± 2,82	*s*

Gewichte von Meerschweinchenschilddrüsen in mg nach Übertragung von Rattenhypophysen (Mittelwerte).

Mittelwerte jeder Versuchsgruppe eingetragen. Die Grenzen (±) geben den doppelten mittleren Fehler an. [Mittlerer Fehler $m = \frac{\mu}{\sqrt{n}}$; $\mu = \sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n-1}}$; d = scheinbarer Fehler der Beobachtung = Abweichung, welche jede einzelne Beobachtung von dem arithmetischen Mittel zeigt; n = Anzahl der Beobachtungen (17).] Unterschiede, die mehr als das Doppelte des mittleren Fehlers betragen, sind signifikant.

Nach der Beurteilung des Gewichts bestehen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Schilddrüsen der drei Versuchsgruppen. Allenfalls darf man sagen, daß die Schilddrüsengewichte der D-frei ernährten Ratten innerhalb der Fehlerbreite in auffälliger Weise fast sämtlich an der

oberen Grenze der Norm liegen. Das entspricht genau dem histologischen Verhalten dieser Schilddrüsen. Signifikante Unterschiede bestehen dagegen zwischen den Hypophysen der D-avitaminotischen Tiere und den Kontrollen und in entsprechender Weise zwischen den Schilddrüsen der Empfängermeerschweinchen. Auch dieses Ergebnis stimmt mit der histologischen Hypophysenauswertung am Meerschweinchenschilddrüsentest gut überein. Die Mittelwerte der Nebennierengewichte sind in den drei Gruppen nicht signifikant unterschieden. Es muß jedoch wiederum auffallen, daß sich die Gewichte der Nebennieren der D-avitaminotischen Tiere — innerhalb der Fehlerbreite — recht hoch halten.

Unsere Versuche haben gezeigt, daß bei Vitamin-D-Mangel eine gewisse Aktivierung der Schilddrüse auftritt, die nicht hypophysär bedingt ist, sondern die ihrerseits noch Rückwirkungen im HVL im Sinne einer Minderung der thyreotropen Wirksamkeit hervorruft. Die Bedeutung des Vitamins D für die Schilddrüse scheint demnach darin zu liegen, in einem gewissen — von der thyreotropen Steuerung durch den HVL unabhängigen — Ausmaß unmittelbar an der Produktionsstätte selbst die Bildung von Drüseninkret zu hemmen. Das Vitamin D gehörte derart mit zu den zahlreichen Stoffen, die vom Organismus zur Regulation der Sekretion der Schilddrüse herangezogen werden, wobei, wie in unserem Falle, der betreffende Stoff neben seinen wichtigeren Aufgaben nur eine Nebenleistung erfüllt. In diesem Zusammenhang ist es ohne Bedeutung, ob das Vitamin D seinen Angriffspunkt in der Schilddrüse selbst, oder ob der nach den experimentellen Ergebnissen nicht auszuschließende erwähnte Zusammenhang mit dem Zwischenhirn besteht.

Das Verhalten der Nebennieren, deren Gewicht bei D-Avitaminose durchschnittlich zunimmt, kann als Reaktion auf die gesteigerte Schilddrüsentätigkeit im Sinne der bekannten Versuche von P. T. Herring (18) u. a. (19) aufgefaßt werden, nach denen die Nebennieren bei Hyperthyreoidisation — vornehmlich durch Hypertrophie der Rinde — ihr Gewicht erheblich vergrößern. Diese Reaktion der Nebennieren ist, wie A. Loeser (20) zeigen konnte, unmittelbar (ohne Mitwirkung der Hypophyse) allein durch die Hyperfunktion der Schilddrüse bedingt. Im Falle der D-Avitaminose sehen wir somit durch die im Mittelpunkt stehenden Veränderungen der Schilddrüse veranlaßt, nicht nur sichere Rückwirkungen im HVL (als dem der Schilddrüse eigentlich übergeordneten Zentrum), sondern möglicherweise auch in einer peripher gelegenen innersekretorischen Drüse: der Nebenniere auftreten.

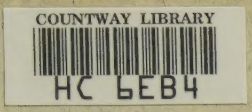
Zusammenfassung.

1. Vitamin-D-Mangel gibt der Rattenschilddrüse eine leichte Tendenz zur Aktivierung.

2. Der Gehalt der Rattenhypophyse an thyreotropem Hormon ist bei Vitamin-D-Mangel deutlich vermindert.

Es wird daraus auf eine sekundäre Hemmung des HVL durch die aktivierte Schilddrüse geschlossen.

Literatur.

1) Nitschke, A.: Klin. Wschr. **1933**, II, S. 1793; Z. Kinderhk. **54**, 223—229 (1933); Dtsch. med. Wschr. **1936**, I, S. 629. — 2) Thoenes, F.: Jb. Kinderhk. **145**, 177 (1935). — 3) Haag, L.: (Kinderkl. Univ. Köln) Diss. 1936. — 4) Deutsch, H., C. J. Reed u. H. C. Struck: Kongreß C-Blatt **90**, 356. — 5) Fasold, H.: Mschr. Kinderhk. **62**, 28 (1934). — 6) Töpfer, D.: Z. Kinderhk. **56** (1934). — 7) Glanzmann, E.: Z. Vitaminforsch. (Schwz.) **3**, 167 (1934). — 8) Uotila, U.: Ber. Physiol. **102**, 568 (1937). — 9) Coormaghtigh, N., u. H. Handovsky: Ebenda **90** (1935). — 10) Schulze, E., u. H. Linnemann: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **189**, 448 (1938); Schulze, E., u. G. Hundhausen: Ebenda **192**, 43 (1939); Hundhausen, G., u. E. Schulze: Ebenda **191**, 570 (1939); Schulze, E., u. G. Hundhausen: Ebenda **192**, 664 (1939). — 11) Steenbock u. Black: J. biol. Chem. (Am.) **61**, 405 (1924). Zitiert nach Chr. Bomskov. — 12) Kampelmann, F.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **184**, 139 (1937). — 13) Heyl u. Laqueur: Arch. internat. Pharmacodynam. **49**, 345 (1934). — 14) Linnemann, H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **192**, 300 (1939). — 15) Kuschinsky, G.: Ebenda **170**, 510 (1933). — 16) Kampelmann, F., u. E. Schulze: Ebenda **184**, 152 (1937). — 17) Michaelis: Einführung in die Mathematik 1927. — 18) Herring, P. T.: Quart. J. exper. Physiol. **11**, 47, 231 (1917); **12**, 115 (1920); Endocrinology **4**, 577 (1922). — 19) Trendelenburg, P.: Die Hormone II., S. 217, Note 2, Berlin 1934. — 20) Loeser, A.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. **173**, 62 (1933).

41B212T